

CONVENIO ESPECÍFICO DE COLABORACIÓN ENTRE EL GOBIERNO DE CANTABRIA Y EL INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFÍA.

*“ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL CULTIVO DEL BOCARTE
(Engraulis encrasicolus) CON DESTINO AL
ABASTECIMIENTO A LA INDUSTRIA CONSERVERA Y
PARA USOS COMO CEBO VIVO”.*

En cumplimiento de la cláusula SEXTA del citado Convenio se presenta el
siguiente

INFORME DEL PROYECTO

Carlos Fernández-Pato
Concha Martínez-Tapia

ÍNDICE.

Antecedentes.....	4
Desarrollo de los objetivos.....	5
Captura, transporte y acondicionamiento de ejemplares salvajes.....	5
Cuarentena.....	7
Mantenimiento e iluminación.....	8
Registro de parámetros.....	10
Alimentación.....	17
Análisis bioquímicos y resultados y discusión.....	20
Muestreos biométricos.....	37
Síntesis de los sistemas de cultivo del alimento vivo:cultivos auxiliares.....	39
Microalgas	
Rotífero	
Desinfección del agua de mar	
Alimentación	
Protocolo de mantenimiento	
Producción	
Artemia	
Desinfección	
Incubación-eclosión	
Enriquecimiento	
Producción de <i>metanauplii</i>	
Inducción a la puesta mediante fotoperiodo y temperatura.....	41
Estadíos larvarios.....	47
Incubación y cría larvaria.....	49

Patologías y supervivencia.....	53
Recapitulaciones y consideraciones generales.....	56
Bibliografía citada.....	58
Bibliografía general.....	59

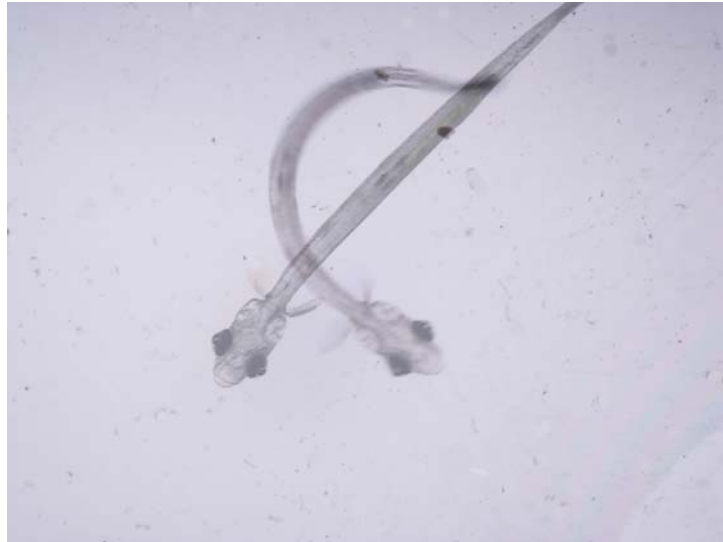
Resumen.

Se presentan los resultados obtenidos sobre captura, adaptación a la cautividad, nutrición, reproducción, cría larvaria, patologías y supervivencia referentes al presente estudio sobre la viabilidad de cultivo del bocarte (*Engraulis encrasicolus*) del Cantábrico. El estudio se plantea con la finalidad de disponer de una técnica de cultivo utilizable en posibles periodos de nulas o bajas capturas así como la posibilidad de disponer de alevines como cebo vivo para la pesca de túnidos, evitando tanto el recorrer grandes distancias para su captura como la presión que éstas puedan ejercer sobre la población natural. Se utilizan diferentes dietas en la alimentación referidas a su composición proteínica y proporción de ácidos grasos presentando los resultados de los análisis de éstas como de la composición muscular de los ejemplares alimentados en cautividad en comparación con ejemplares salvajes coincidentes siempre en las mismas épocas del año. Se hace especial referencia a las proporciones y relaciones de ácidos con potencial aterogénico (Laúrico, Mirístico y Palmítico) que resultan menores siempre con la alimentación empleada en cautividad. De los monoenoicos el Oleico tiene mayor proporción en los ejemplares de cautividad igualmente en los n-3HUFA(EPA y DHA) en cualquier época del año siendo menor el Araquidónico (ARA) salvo en el contenido del bocarte de otoño-invierno. Se realizan comparaciones así mismo en las proporciones de n-3/n-6; y cantidades de ácidos saturados y monoenoicos, tanto con ejemplares salvajes como en salazón. La cantidad de grasa bruta es mayor en ejemplares alimentados en cautividad con cualquiera de las dietas, teniendo por tanto un mayor contenido calórico incluso que aquellos de salazón. En cuanto a la cantidad de proteína sólo es similar entre orígenes cuando el pienso contiene alrededor de un 50% de la misma. El aminograma es similar entre orígenes. En los ejemplares en salazón el contenido en ácidos saturados es mayor y la relación n3/n6 resulta ser la mejor.

Se presentan datos biométricos y de supervivencia donde no se encuentran diferencias entre dietas. Así como del factor de condición (K) y grasa intraperitoneal.

Se describe la puesta, incubación y desarrollo larvario y su alimentación hasta día 15 de cultivo.

**“ESTUDIO DE VIABILIDAD DEL CULTIVO DEL BOCARTE
(*Engraulis encrasicolus*) CON DESTINO AL
ABASTECIMIENTO A LA INDUSTRIA CONSERVERA Y
PARA USOS COMO CEBO VIVO”.**



1.-Antecedentes.

El proyecto tiene como antecedente mas próximo el proyecto de Investigación Aplicada Colaborativa de I+D+I del VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica, “Estudio de la viabilidad del cultivo de la anchoa como suministro estable para acuicultura” en colaboración con: AZTI-Tecnalia; Fundación Oceanográfica de Guipúzcoa (AQUARIUM de San Sebastián); Universidad de Oviedo (UNIOVI, Área de Genética Acuícola) y el IEO (Centro Oceanográfico de Santander).

Sin pretensiones de una revisión bibliográfica in extenso, existen al menos desde 1959, que hayamos podido recopilar trabajos sobre alimentación larvaria de la anchoa, *Engraulis mordax*, (Berner, I., 1959) y desde los años 1970 trabajos sobre cultivos en laboratorio de larvas de la misma especie, en cuanto a alimentación, crecimiento, y supervivencia (Lasker, R., *et al.*, 1970). En cuanto al bocarte del Cantábrico, *Engraulis encrasicolus*, como trabajos mas

recientes y que hagan referencia a su cultivo citamos a Yaisel, J., *et al.*, (2011); Martínez de Murguía, A., *et al* (2011) en los que los autores de este informe son coautores de ambos. En referencia a estadíos larvarios tempranos cultivados en laboratorio, únicamente disponemos de la cita de Garrido, S., *et al.*, (2012).

2.-Desarrollo de los objetivos.

2.1. Captura, transporte y acondicionamiento de ejemplares salvajes

Las capturas se realizaron durante los dos primeros años dado que el tercero no tuvo dotación presupuestaria y en la prórroga del 2013 la dotación económica fue disponible en un periodo muy próximo a la puesta con lo cual los trámites de alquiler de un barco y las consiguientes capturas se hicieron imposibles no sólo por razones administrativas si no porque la pesca se efectuaba en el Golfo de Vizcaya a una distancia en que según consejo de los Patrones de los barcos consultados no consideraban posible que los ejemplares llegaran vivos hasta tierra.

Las capturas en los dos primeros años se hicieron mediante un barco cerquero. Se capturaron individuos de ambos sexos en su mayoría juveniles, Las medias de la longitud y peso son de 12 cm y 10 g.

Los bocartes fueron pescados a la menor profundidad posible, unos 15 a 20 metros, lo que disminuye considerablemente la mortalidad por falta de descompresión, que se manifiesta por hemorragias visibles en las zonas oculares, cuando son capturados a profundidades de 50 a 70 m. Aun así los ejemplares son delicados en su manejo y la mortalidad es grande en las primeras 48 horas, llegando a alcanzar valores de alrededor del 50%..

Los individuos, que son especialmente muy delicados en piel, ojos y aletas, fueron llevados a tanques de transporte mediante salabardos especialmente diseñados y utilizados por este tipo de barcos. Básicamente consisten en red sin nudos, recubiertos en la casi totalidad de su interior con tela o tela plástica, de manera que retienen el agua un tiempo y dañan menos a los peces en lo referente a pérdida de escamas u ojos como los contruidos solamente con red. Son útiles para el traslado desde el cerco a los depósitos. También se dispuso para su traslado desde los depósitos de transporte de otros de lona plástica aunque con perforaciones para conferir una mejor movilidad dentro del agua, para la captura de los ejemplares dentro del depósito de transporte.

A los ejemplares una vez instalados en los depósitos de transporte se les suministró oxígeno y renovación de agua periódicamente, para conseguir saturaciones de un 85%. Una vez en puerto los depósitos fueron izados mediante un camión grúa para su traslado a la Planta de Cultivos reduciendo así al máximo las manipulaciones sobre los individuos y con ellos los daños corporales a los mismos. Durante el transporte en camión se les suministró oxígeno, para mantener concentraciones de alrededor de un 85%.



Maniobras de embarque instalación a bordo e izado de los tanques desde un camión-grúa

Los depósitos de transporte son de PRFV opaco, circulares y con tapa de PVC transparente, con un volumen de 800 l. En la tapa llevan un tubo de PVC de 20 cm, con el extremo abierto, cuya finalidad es mantener el equilibrio del agua de manera que al no perder por la tapa, el depósito es llenado hasta rebosar por este tubo, de manera que el golpeo del agua, se hace fundamentalmente en el diámetro de dicho tubo. Están incluidos en una armadura metálica para facilitar las labores de arriado e izado. La tapa es transparente con el fin de que penetre luz y los peces no se desorienten y naden en círculo, como ocurre en los peces gregarios, golpeándose lo mínimo contra la estructura del depósito. El izado del tanque con agua y los peces capturados evita trasiegos manuales sobre los bocartes y por consiguiente daños corporales y pérdida de escamas.

En el barco, los depósitos con la armadura tienen las medidas apropiadas para que se ajusten a las “cajas” de pescado de cubierta con lo que se evitan posibles desplazamientos, roturas y amarres para asegurarlos, lo cual condicionó también la forma cilíndrica de los mismos.

El peso de ejemplares por volumen ha de ser bajo, alrededor de 3 k/m³, para evitar daños producidos entre ellos y por disponibilidad de oxígeno para su consumo.

Una vez trasladados a las instalaciones en tierra, los ejemplares son extraídos de los depósitos de transporte mediante los salabardos citados con perforaciones que permiten una buena movilidad dentro del agua para su captura y una vez efectuada en pequeño número son inmediatamente sumergidos en recipientes con agua y trasladados e instalados en depósitos de 45 m³ (1,60 m altura) y de 16 m³ (0,9 m altura), cubiertos con cortinas opacas y con regulación del nivel e iluminación renovación de agua de 20/25 l/m=1200/1500 l/h, para los tanques de 16 m³ y de 30/35 l/m = 1800/2100 l/h lo que suponen renovaciones de unas dos veces al día en el caso de los tanques de 16m³ y de aproximadamente una en el tanque de 45m³. Naturalmente el caudal se varía aumentando o disminuyendo en función de que la temperatura sea mas alta o mas baja.



Traslado de los ejemplares mediante salabardo de tela plástica

2.2-Cuarentena.

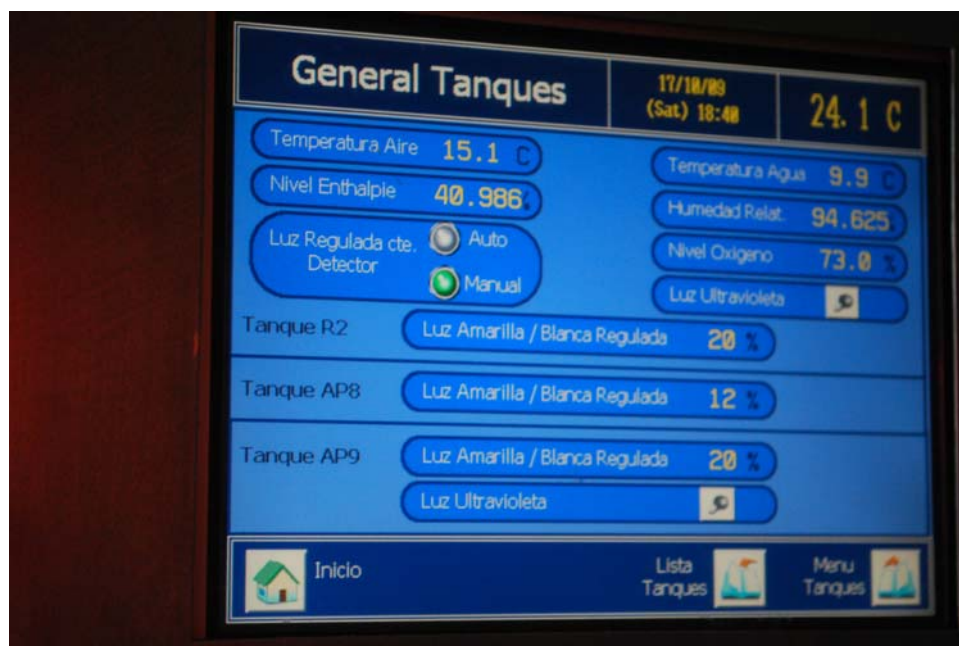
Una vez pasadas las primeras 4/5 horas de acondicionamiento y pérdida de estrés, se comienza un tratamiento preventivo con baños de gentamicina en dosis de 4.5 g /m³ durante 30 m, parando la renovación del agua y aportando oxígeno mediante difusores en el tanque y durante la duración del tratamiento, manteniendo el nivel de oxígeno en concentraciones mínimas de un 90%. Este tratamiento se mostró efectivo para prevención de infecciones en la piel debidas a descamaciones y así mismo como preventivo de infecciones debidas al estrés, al ser absorbido también a través de las branquias. El tratamiento se prolonga durante 7 días.

2.3-Mantenimiento.- Los peces son alimentados *ad libitum* dos veces al día, observados en su comportamiento y posibles anomalías en la piel, color y ojos y el fondo es sifonado dos veces al día con el fin de retirar heces y restos después de cada comida.

2.4-Iluminación.

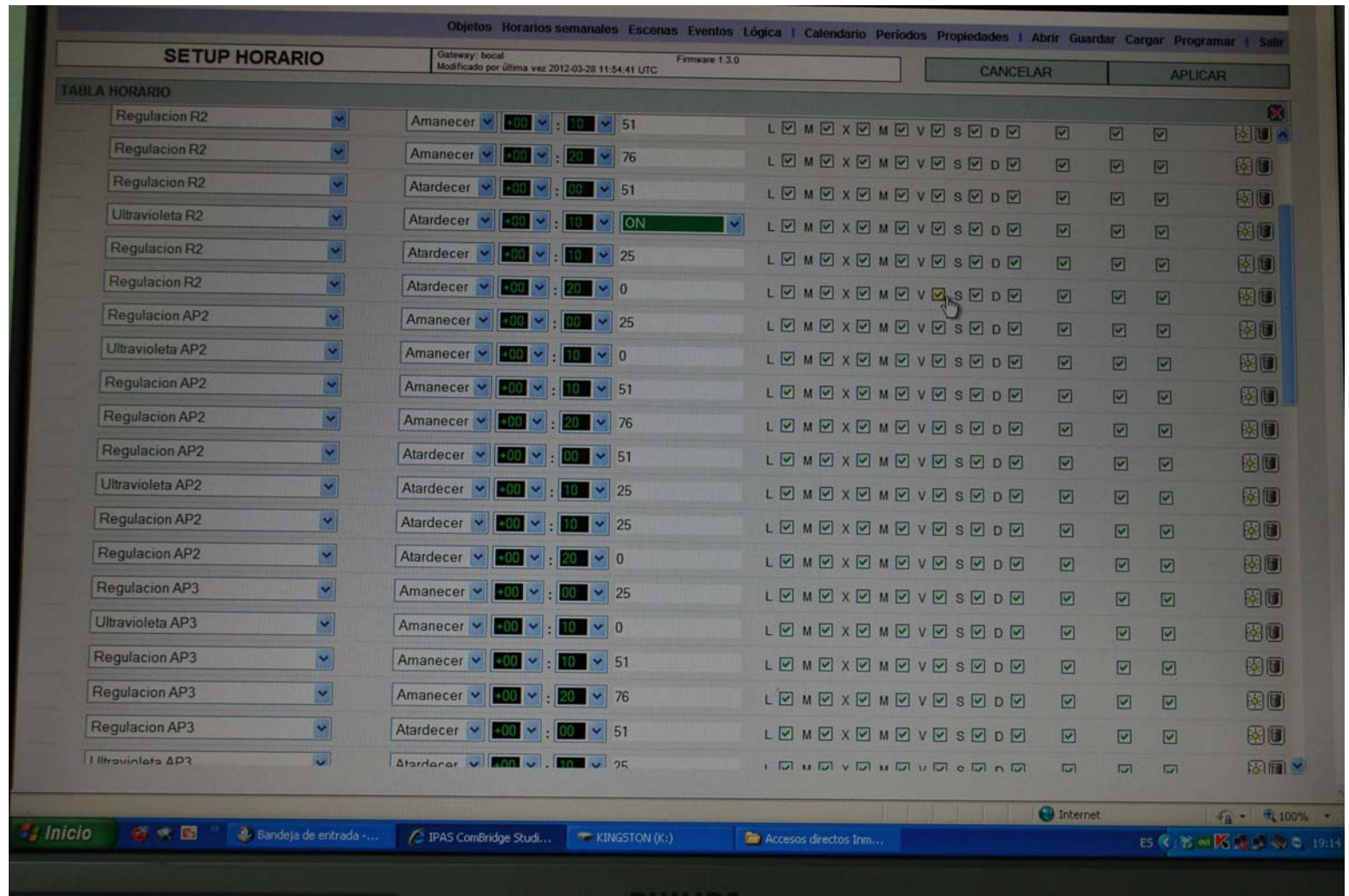
La iluminación, en un principio de tipo “luz día” y posteriormente sustituida en dos de los tanques por una de tipo Aqualine, azul de 15000°K que tiene una mayor penetrabilidad en la columna de agua. Todas pueden ser reguladas en porcentaje respecto a la iluminación exterior o actuar mediante fotocélula exterior, que regula la iluminación según el estado climatológico (menos luz en días nublados y mas en días claros, etc.) o bien mediante programa de reloj astrológico ajustado en horas de iluminación al calendario real. El encendido y apagado es siempre paulatino imitando el amanecer y el crepúsculo. Al apagarse las luces tipo “día” se encienden automáticamente unas pequeñas lámparas de luz ultravioleta (UV) que simulan la “luz de luna” y evitan que los peces se golpeen contra las paredes; lo cual sucede en muchos peces gregarios que en la oscuridad dejan de nadar en círculo.

Cuando se suministra alimento se aumenta el nivel de luz en un 20%. Esto hace que los peces se acostumbren al estímulo y por lo ensayado en otras especies responden mejor a la comida que también se suministra siempre a las mismas horas.



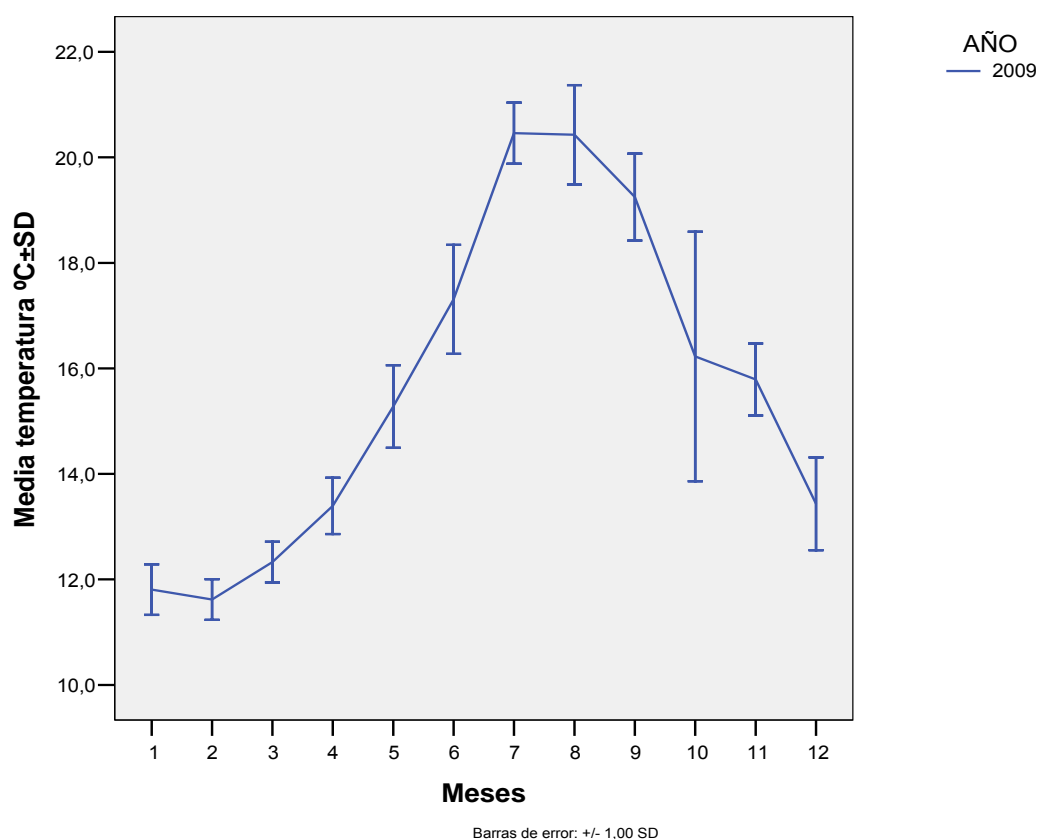
Pantalla de domótica para regulación horaria e intensidad de luz

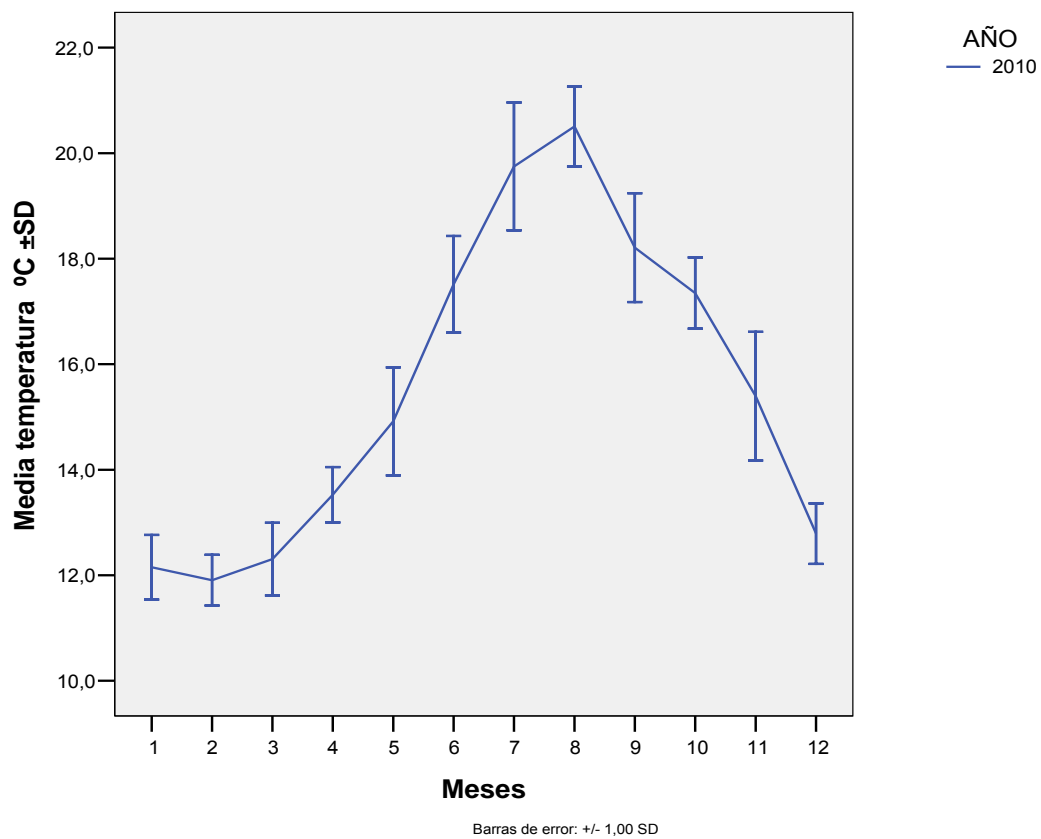
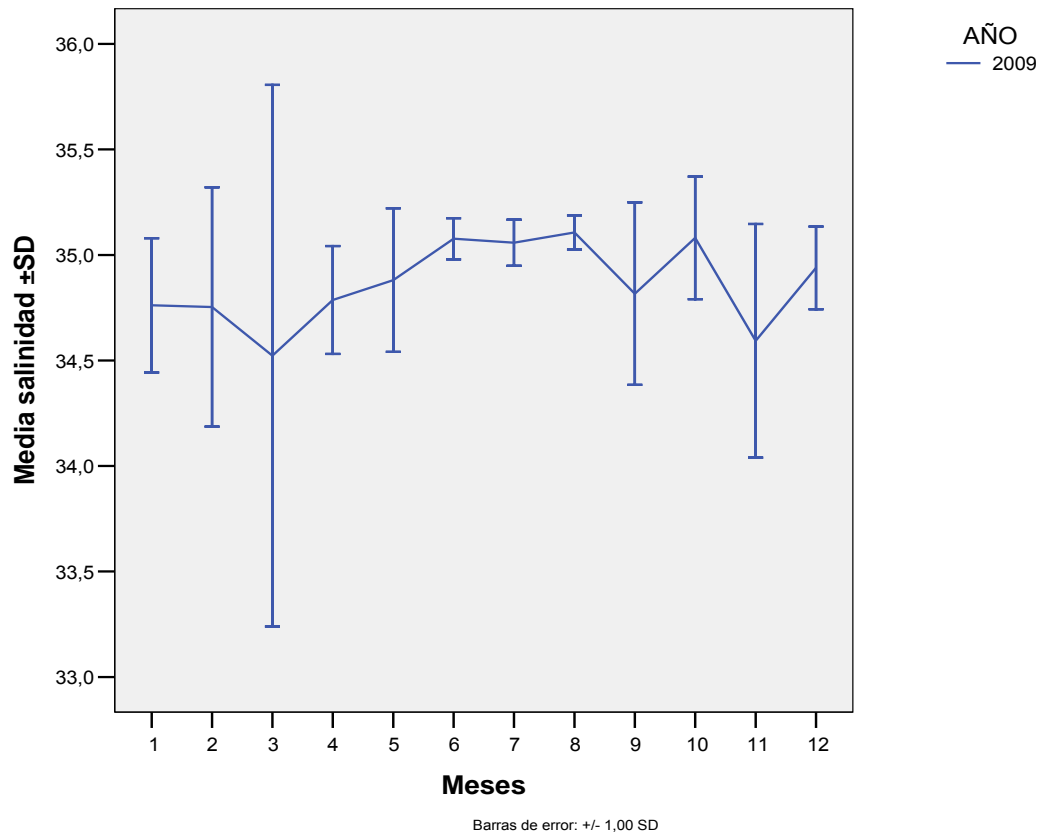
Se comenzó actuando mediante la fotocélula, pero por problemas de ajustes de iluminación al depender de factores meteorológicos con la realización de trabajos, comidas, etc., se optó por la iluminación de reloj astrológico manejado mediante PC.

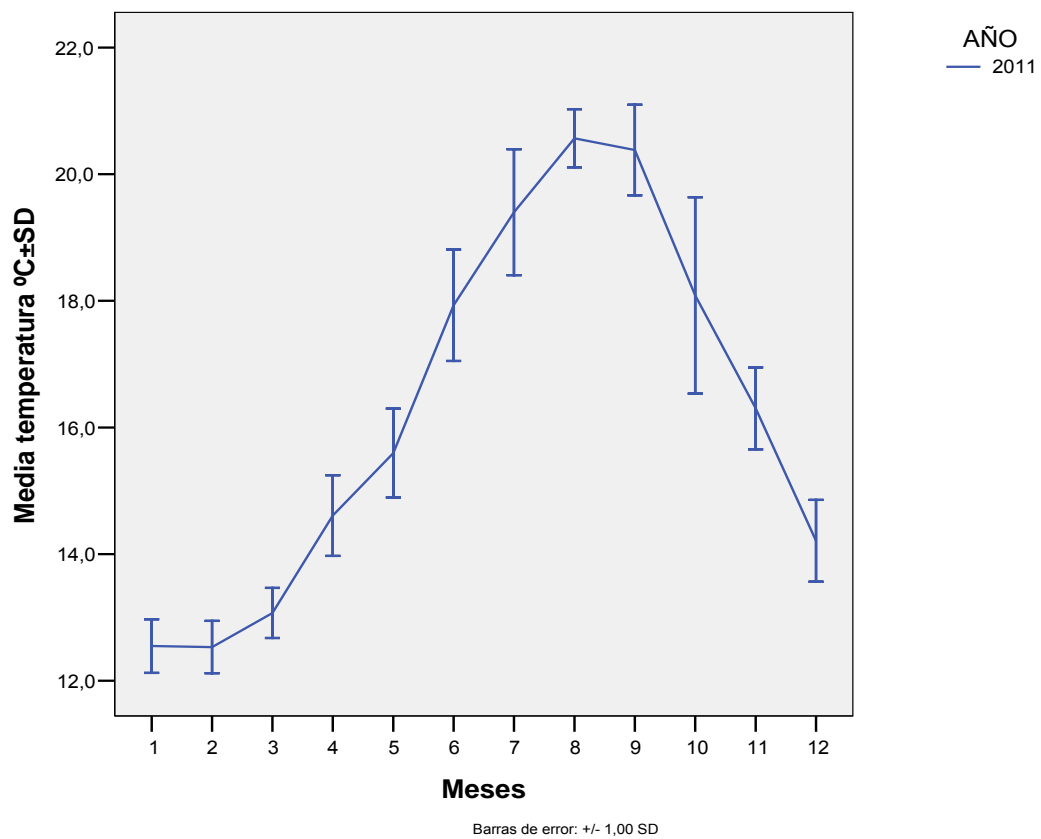
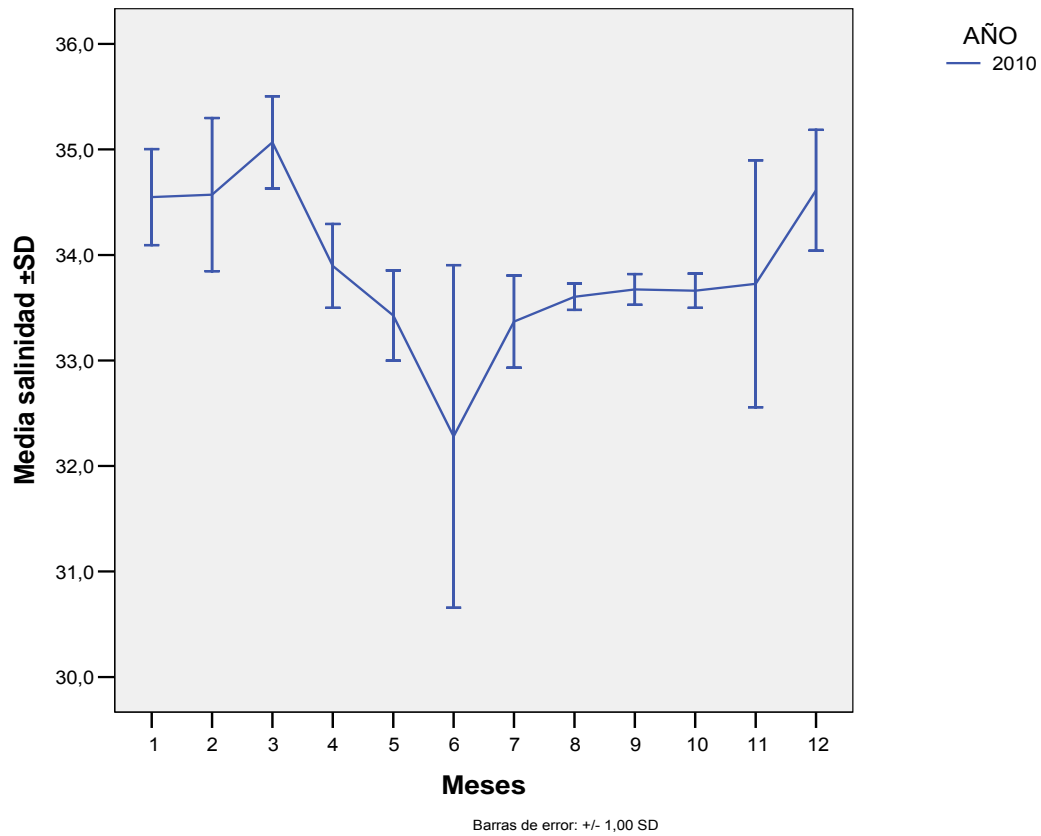


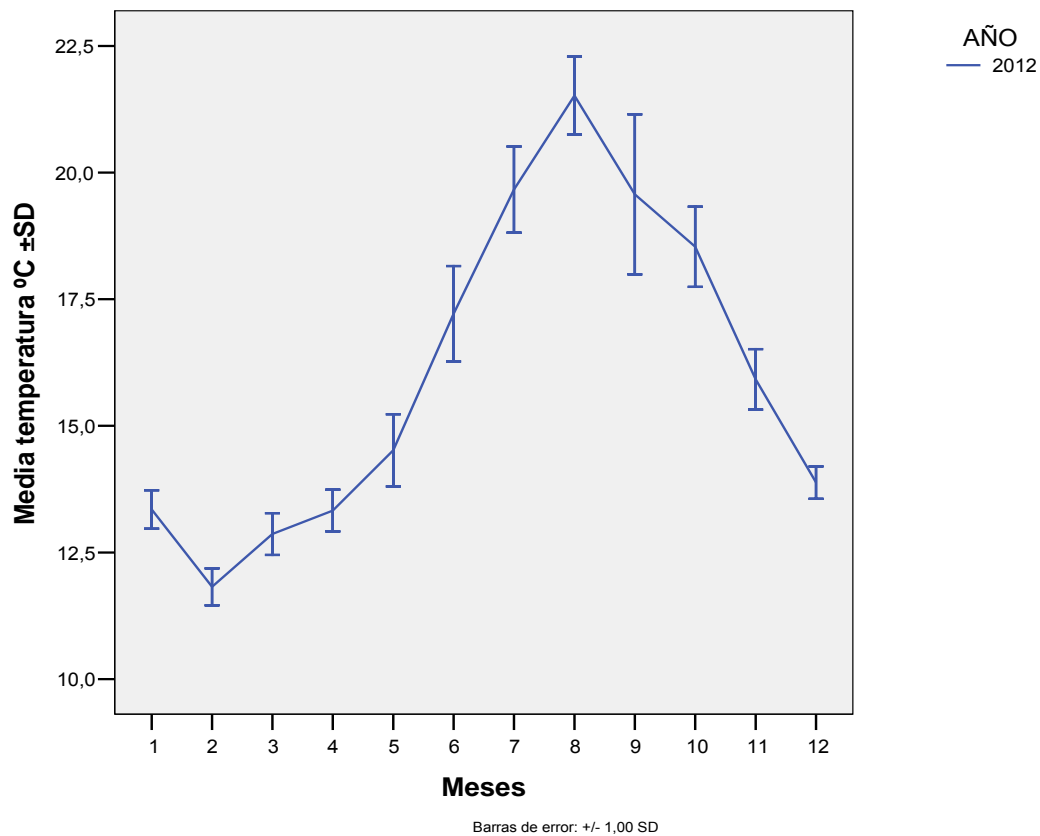
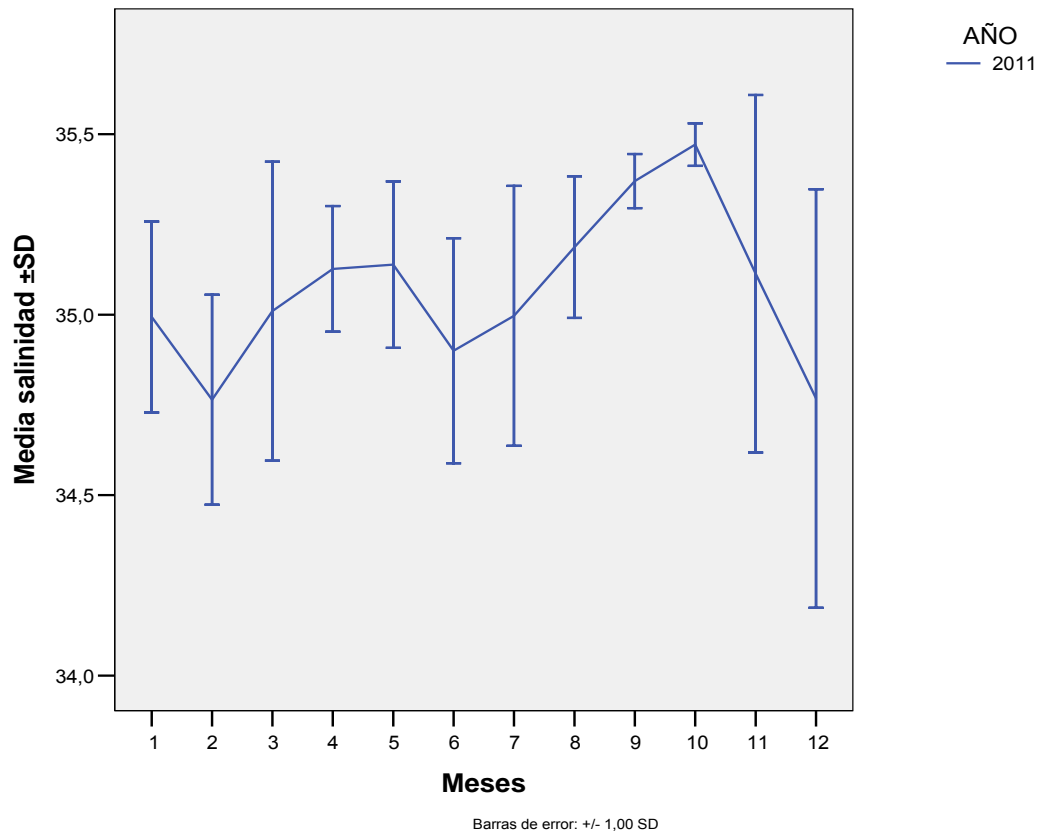
3.-Registro de parámetros.

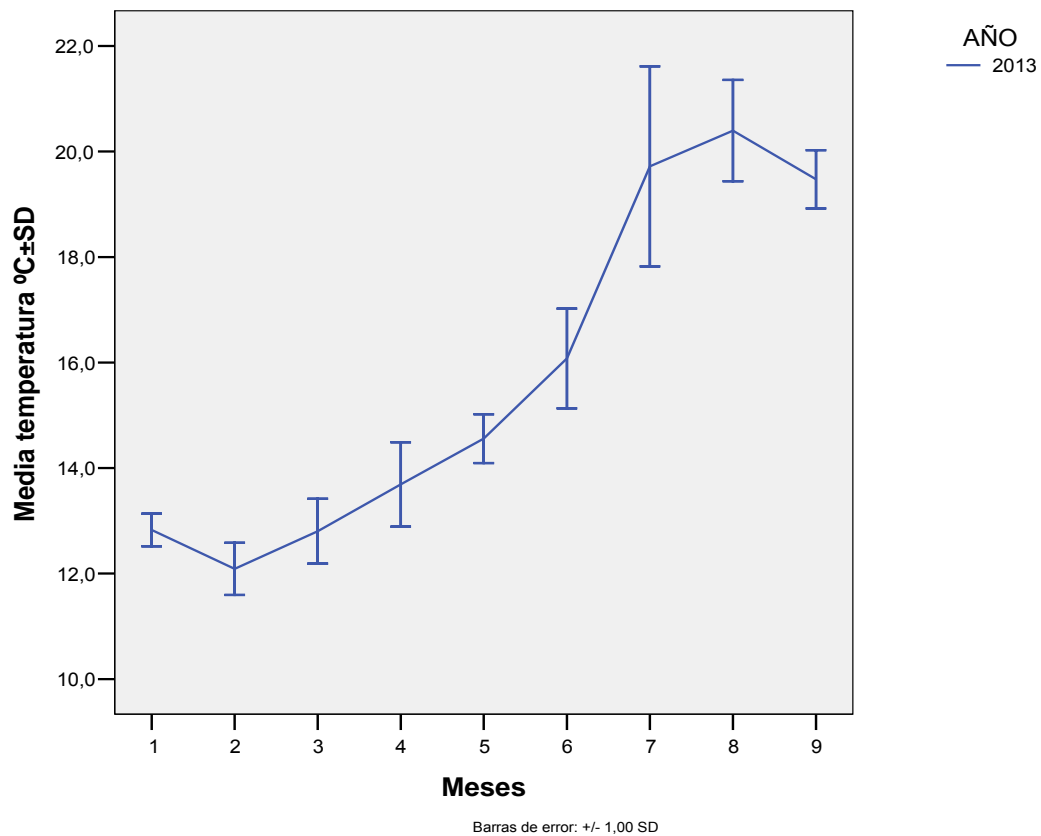
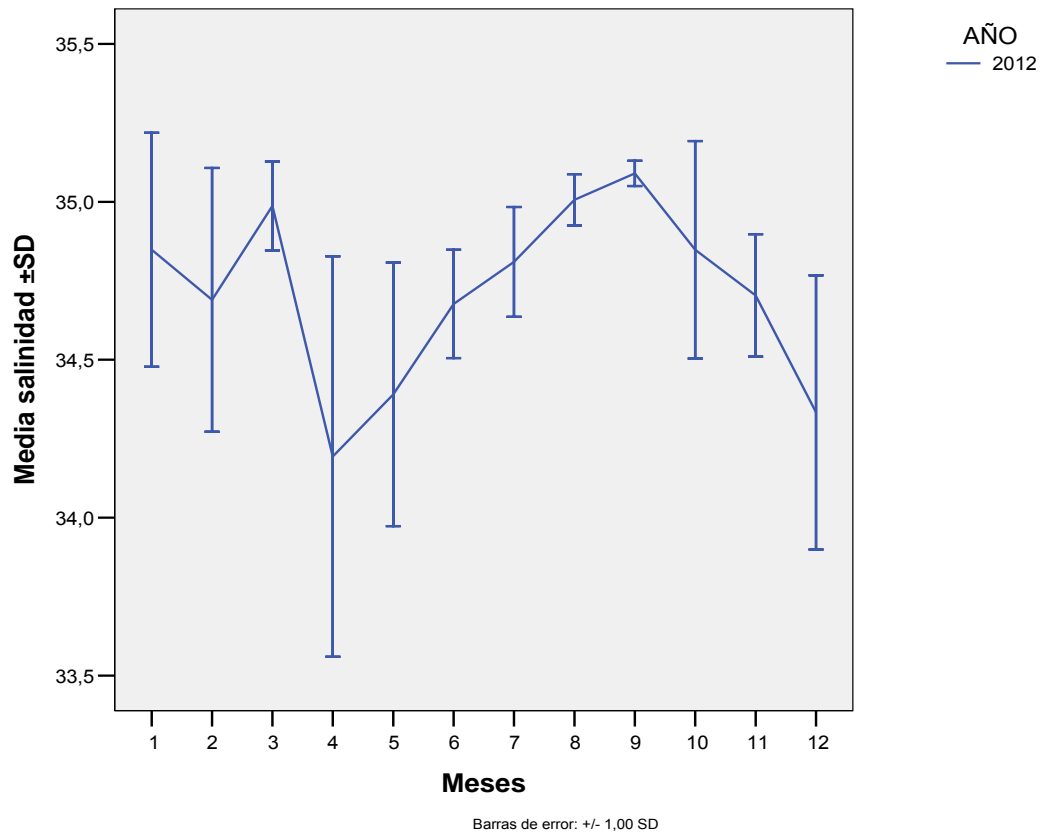
Se registran a diario la temperatura del agua, oxígeno disuelto (técnicas amperimétricas), salinidad (técnicas conductimétrica) y mortalidad si la hubiera para determinar posibles lesiones o patologías. Se presentan a continuación los gráficos de temperatura y salinidad de los años correspondientes al presente estudio.

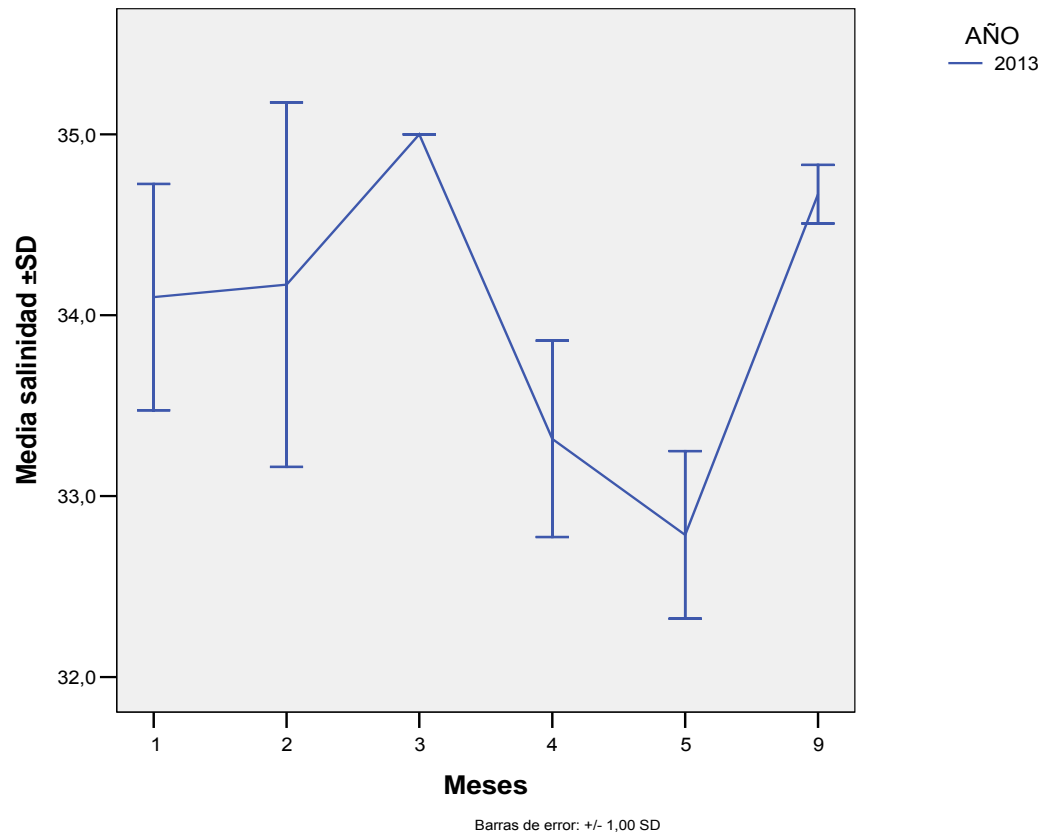




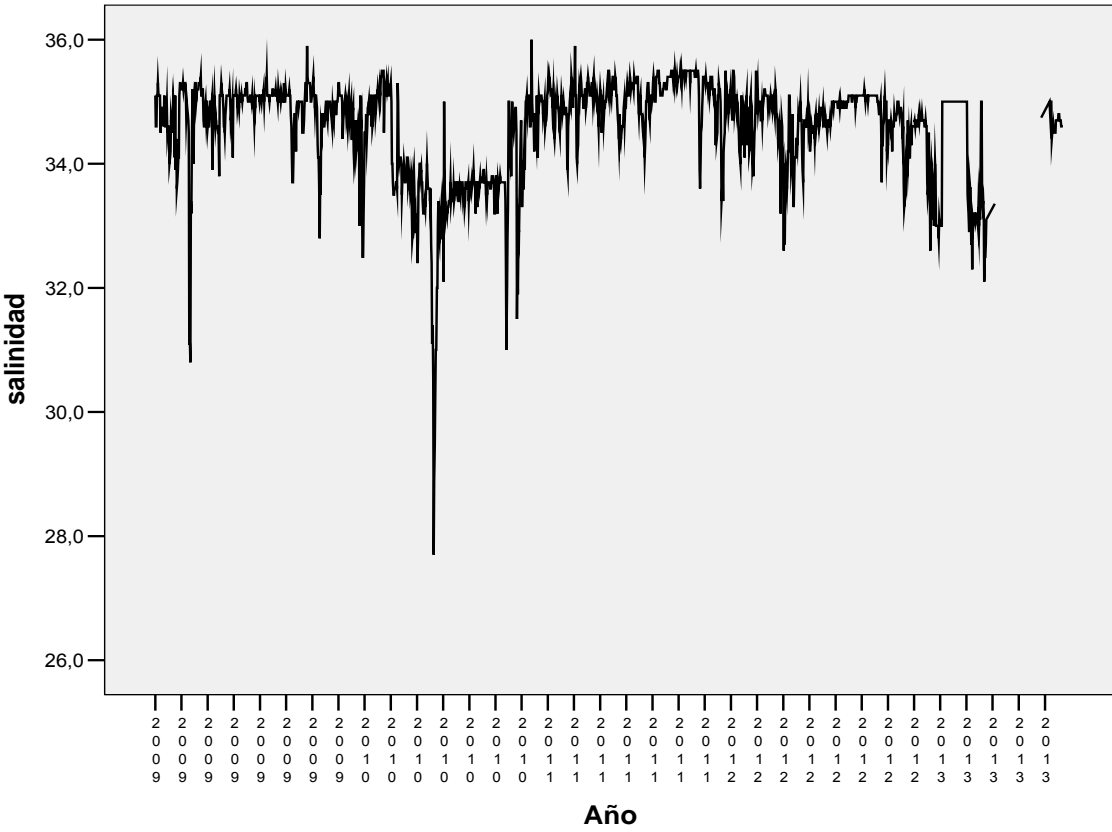
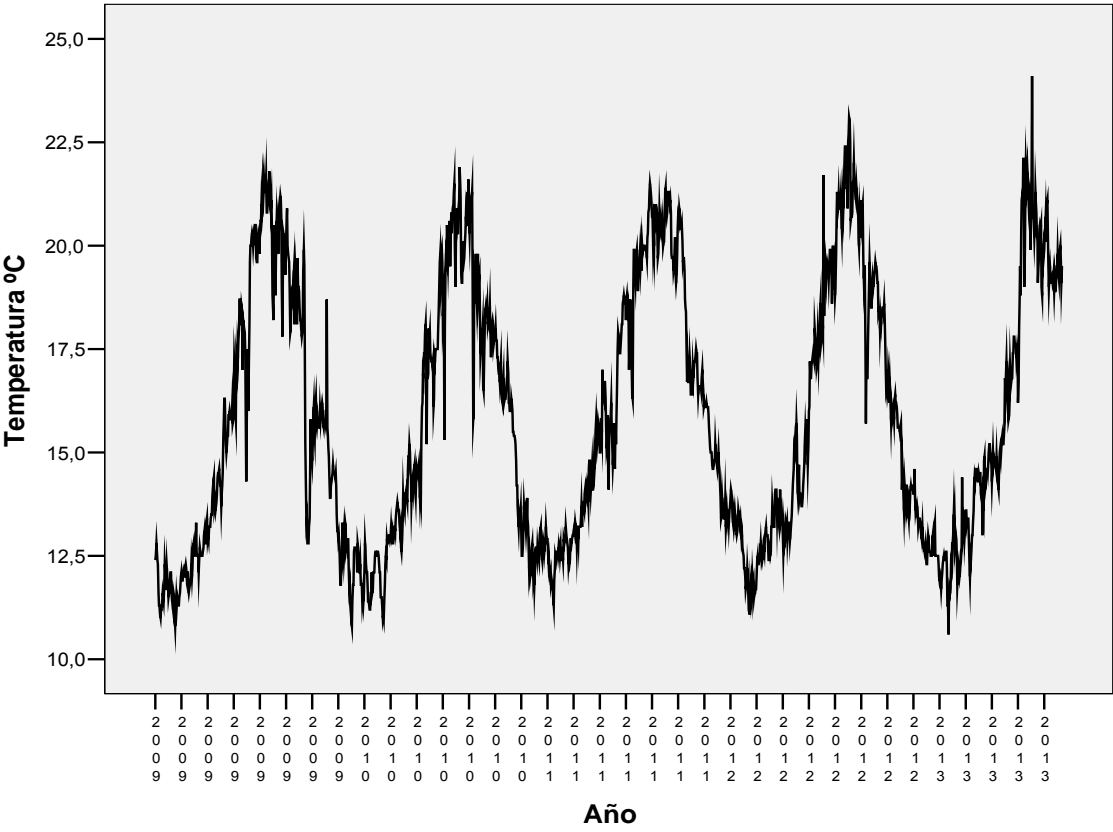








GRAFICOS DE SECUENCIA DE TEMPERATURA Y SALINIDAD DE LOS AÑOS CORRESPONDIENTES AL ESTUDIO.



El oxígeno se mantuvo siempre en valores superiores a concentraciones del 87%. El pH se mantuvo en valores de 7.60 ± 0.1 .

4.Alimentación.

Se inician a la alimentación mediante pasta de pescado (lirio y chicharro) junto con un 15% de mezcla de mejillón, calamares y crustáceos esta comida se suministra los 2/3 primeros días y paulatinamente se va sustituyendo por gránulos de pienso acordes al tamaño de los ejemplares, elaborado en el laboratorio y en términos generales constituido por harina LT (harina de alta digestibilidad), pasta de pescado, al que se añade un 10% de pasta de crustáceos, cefalópodos y mejillón, aceite de hígado de bacalao*, y premix vitamínico-mineral**. A todos ellos se les añade canthaxantina por efecto positivo citado en la literatura científica sobre la maduración gonadal. Todo ello se homogeneiza en una mezcladora. Las cantidades pequeñas son mezcladas primero con harina en una mezcladora doméstica, pasando a añadir cada vez cantidades mayores de harina hasta conseguir la homogenización adecuada, pasándolas después a la mezcladora-amasadora semi-industrial con el resto de los componentes hasta conseguir una pasta suficientemente homogénea y a continuación se pasa por una extrusora con una placa de orificios de 2 mm de diámetro. En el primer año y para comprobar la idoneidad, en cuanto a grasa corporal y sostenibilidad de la alimentación se probaron las composiciones, en las que la única variación son las proporciones de los dos tipos de harina y de aceite de hígado de bacalao, tal y como se expresan en la siguiente tabla:

Pienso	Harina de pescado-LT %	Harina de soja %	Pasta de pescado %	Aceite hígado de bacalao ml/Kg p.h.	Premix vitaminas g/Kg ps	Premix mineral g/Kg p.s.	Canthaxantina g/Kg p.s.
AP2	70	30	50	-----	3	2.5	2
AP3	50	50	50	50	3	2.5	2
AP8	30	70	50	50	3	2.5	2
AP9	100	0	50	-----	3	2.5	2

p.h.=peso húmedo; p.s.=peso seco

Composición de los piensos de cada grupo

** PREMIX VITAMINICO MINERAL (Cantidad añadida: 2g/kg de pienso húmedo*) *Humedad = 40% ±5%	
VITAMINAS	
Vitamina A	10 ⁶ U.I.
Vitamina E	30 g
Vitamina B ₁	25 g
Vitamina B ₂	100 g
Vitamina B ₆	25 g
Vitamina B ₁₂	0,10 g
Vitamina K ₃	2,50 g
Vitamina C	125 g
Pantotenato cálcico	100 g
Acido Nicotínico	375 g
Acido Fólico	7,50 g
Biotina	0,75 g
Inositol	26 g
Excipiente	100 g
MINERALES	
Bifosfato cálcico	2225 mg
Carbonato cálcico	1000 mg
Carbonato magnésico	900 mg
Sulfato ferroso	500 mg
Cloruro potásico	250 mg
Sulfato de aluminio	1 mg
Sulfato de zinc	20 mg
Sulfato de cobre	5 mg
Sulfato de manganeso	10 mg
Ioduro potásico	1 mg
Cloruro de colina	150 mg
Sulfato de cobalto	5 mg
Excipiente	c.s.p. 1 Kg

Durante el primer mes después de la recepción de los ejemplares, la cantidad añadida de premix vitamínico se incrementa hasta 5g/kg y se suplementa además con 1 g/kg de vitamina C, por sus propiedades preventivas ante los factores derivados del estrés.

La composición que se ajustó, según los análisis bioquímicos que se realizaron en experiencias anteriores derivadas de un proyecto de colaboración con AZTI-Tecnalia, Aquarium de San Sebastián y la Universidad de Oviedo, permiten acercarse en buena parte a una adecuada composición. Aunque se cuenta con esta experiencia previa este es uno de los temas primordiales en el proyecto, una alimentación adecuada no sólo para el crecimiento en peso y composición y textura para la transformación conservera en anchoas, si no una dieta

adecuada para la reproducción en la que se cuenta con un abanico mayor de alimento natural (mejillón, crustáceos, cefalópodos, etc.), en un tanque de 25 m3 denominado R2, dedicado exclusivamente a comprobar la calidad de las posibles puestas que puedan obtenerse.

El alimento se distribuye de forma manual de manera que puede observarse el comportamiento ante el mismo y actuar en caso de rechazo o anorexia por la textura o posibles patologías.

Mezcladora y máquina de extrusión para la fabricación de pienso semihúmedo



Anchoas alimentadas en cautividad. (Se puede apreciar el buen estado de la piel, ojos, aleta caudal y branquias)

5. Análisis bioquímicos.

Muestras.

Para los análisis de las dietas, se tomaron tres muestras aleatoriamente de cada una de ellas. Las muestras fueron envasadas al vacío y conservadas a -80 °C hasta su análisis.

En el caso de las muestra de los peces, se extraen entre 4- 6 ejemplares de cada tratamiento (100 g de muestra de músculo en filetes antero-posteriores). Una vez sacrificados mediante choque térmico frío, se extraen los filetes conservándose igualmente al vacío y a -80 °C hasta su análisis. En el momento de proceder a su análisis las muestras, descongeladas, son homogeneizadas mediante trituradora sin que lleguen a calentarse.

5.1. Análisis proximales.

Se analizan siguiendo los métodos de acuerdo con AOAC (2000). para proteínas, humedad, cenizas, grasas totales y carbohidratos. La energía (Kj) fue calculada según valores energéticos de los porcentajes de proteína, grasa bruta y carbohidratos.

5.2. Análisis de ácidos grasos.

La fracción lipídica es extraída del tejido muscular siguiendo el método descrito por Folch et al. (1957). Los ácidos grasos de los lípidos totales se preparan mediante transmetilación (Christie 1982 Metcalfe et al, 1961) para posterior separación y cuantificación por cromatografía de gases con detección FID (cromatógrafo HP 5890) e identificación mediante comparación con patrones externos (Sigma-Aldrich).

5.3. Resultados

Se presenta en primer lugar el cromatograma del aceite de hígado de bacalao utilizado, en el que se puede observar su alto contenido en omega-3 (EPA y DHA).

Cromatograma del aceite de hígado de bacalao utilizado

CROMATOGRAMA DE ÁCIDOS GRASOS %	Aceite hígado bacalao
Láurico 12:0	n.d.
Mirístico 14:0	4.88
Miristoleico 14:1 n-5	n.d.
Pentadecanoico 15:0	n.d.

Palmítico 16:0	13.64
Palmitoleico 16:1 n-7	6.03
Margárico 17:0	0.45
Hexadecadienoico 16:2 n-7	0.68
Esteárico 18:0	2.96
Oleico 18:1 n-9 OA	24.74
Linoleico 18:2 n-6 AL *	6.58
Araquídico 20:0	0.33
Linolénico 18:3 n-3 ALA*	2.09
Gadoleico 20:1	6.07
Estearidónico 18:4 n-3	1.76
Eicosadienoico 20:2 n-6	0.56
Behénico 22:0	1.02
Erúcico 22:1 n-9	6.30
Araquidónico 20:4 n-6 AA*	1.30
Eicosapentaenoico 20:5 n-3 EPA **	8.03
Docosatetraenoico 22:4 n-6	n.d.
Docosapentaenoico 22:5 n-6	2.87
Docosahexaenoico 22:6 n-3 DHA **	9.06
Σ SAFA (Saturados)	22.28
Σ MUFA (monoenoicos)	43.14
Σ n-3	20.94
Σ n-6	4.73
Σ n-9	31.04
Σn-3 HUFA	17.09
EPA/DHA	0.88
AA/EPA	0.16
OA/DHA	2.73
OA/n-3 HUFA	1.44
n-3/n-6	4.42

Composición de las harinas de pescado y soja utilizadas como pienso

	HarinaPescado	HarinaSoja
Humedad (100°C)%	9.18	13.97
Cenizas totales (550°C)%	14.90	6.04
Grasa Bruta (Hidrólisis ácida)%	9.19	3.05
Proteína (Nx6,25)%	66.69	42.51
Hidratos de Carbono%	<0.5	34.43
Energía Kcal/100g	350	335
Energía Kj/100g	1474	1421

Es de notar la mayor cantidad de proteína de la harina de pescado (y menor humedad), así como la mayor cantidad de grasa bruta y sin embargo la mayor cantidad de carbohidratos de la harina de soja, lo cual hace que calóricamente sean muy similares.

AMINOGRAMA %	Harina Pescado	Harina Soja
Aspártico	5.85	5.47
Glutámico	8.40	9.03
Serina	2.54	2.32
Histidina*	2.40	0.86
Glicina	3.78	1.81
Treonina*	2.95	1.91
Alanina	3.95	1.92
Arginina*	3.60	3.67
Tirosina	2.15	1.63
Valina*	3.68	2.45
Metionina*	1.96	0.61
Fenilalanina*	2.79	2.30
Isoleucina*	2.95	2.08
Leucina*	4.80	3.54

Lisina*	4.96	2.37
Hidroxiprolina	0.47	0.06
Prolina	2.51	2.36
Cistina	0.27	0.56
Triptófano*	0.90	0.48

Los aminoácidos considerados esenciales (*) están en mayor cantidad en la harina de pescado, sobre todo la lisina, como es habitual que sea un aminoácido abundante en los pescados en general.

CROMATOGRAMA DE ÁCIDOS GRASOS %	HarinaPescado	HarinaSoja
Láurico 12:0	n.d.	0.56
Mirístico 14:0	9.20	0.79
Miristoleico 14:1 n-5	n.d.	n.d.
Pentadecanoico 15:0	n.d.	n.d.
Palmítico 16:0	32.93	43.17
Palmitoleico 16:1 n-7	5.93	0.96
Margárico 17:0	1.49	0.36
Hexadecadienoico 16:2	0.77	0.28
Esteárico 18:0	8.08	11.84
Oleico 18:1 n-9 OA	15.44	24.26
Linoleico 18:2 n-6 AL *	1.61	9.96
Araquídico 20:0	0.34	0.88
Linolénico 18:3 n-3 ALA*	0.74	n.d.
Gadoleico 20:1	1.76	0.24
Estearidónico 18:4 n-3	1.12	n.d.
Eicosadienoico 20:2 n-6	0.32	0.39
Behénico 22:0	0.23	1.82
Erúcico 22:1 n-9	0.98	1.26
Araquidónico 20:4 n-6 AA*	0.36	0.51
Eicosapentaenoico 20:5 n-3 EPA **	5.54	n.d.
Docosatetraenoico 22:4 n-6	n.d.	n.d.
Docosapentaenoico 22:5 n-6	0.99	0.20
Docosahexaenoico 22:6 n-3 DHA **	10.11	0.54
Σ SAFA (Saturados)	52.27	59.42
Σ MUFA (monoenoicos)	24.12	26.72
Σ n-3	17.51	0.54
Σ n-6	3.28	11.06
Σ n-9	16.42	25.52
Σ n-3 HUFA	15.65	0.54
EPA/DHA	0.54	-----
AA/EPA	0.06	-----
OA/DHA	1.52	44.92
OA/n-3 HUFA	0.92	44.92
n-3/n-6	5.33	0.04

En la harina de pescado, es reseñable su mayor contenido en ácido mirístico (aterogénico) pero también en n-3 de manera considerable, siendo muy próximas en saturados y la harina de soja con mayor contenido en ácido oleico. Siendo conocido que la ausencia de elongasas y desaturasas en peces marinos impiden la transformación de los ácidos linoleico y linolénico en series de n-6 y n-3, respectivamente es importante el contenido de estos en la alimentación de los mismos. En este caso la harina de pescado es mas rica en n-3 y la de soja en n-6. Siendo como es conocido el alto valor frente a enfermedades cardiovasculares y de tipo nervioso los ácidos omega-3.

Se presentan los análisis bioquímicos de ejemplares alimentados en cautividad en el IEO de Santander y los piensos utilizados así como de ejemplares de población salvaje capturados en distintas fechas. Estos análisis se refieren a contenido en músculo de proteína, grasa bruta, humedad, hidratos de carbono, energía (Kcal/100g; Kj/100g), cromatograma de ácidos grasos, cualitativo y cuantitativo y aminograma, expresados también todos los aminoácidos cualitativa y cuantitativamente en porcentaje. Estos mismos análisis, se hacen también en el pienso.

Como puede observarse en la Tabla 1 los piensos utilizados difieren fundamentalmente en la cantidad de grasa, cantidad de proteína e hidratos de carbono, todo lo cual hace que tenga mas o menos calorías según estas variaciones, y como se puede ver en la Tabla 2 lo mismo ocurre en el contenido corporal en cuanto a grasa bruta se refiere pero no así en el contenido proteínico.

En la Tabla 3 referente al porcentaje de aminoácidos (AA), al igual o derivado de la mayor absorción de proteína como se ha referido sobre la Tabla 2, podemos observar que con los contenidos en AA en el pienso en general los contenidos en el músculo son similares a los ejemplares salvajes, sobre todo si se comparan con los de la misma época correspondiente al sacrificio de los ejemplares en cautividad.

	PiensoAP2	PiensoAP3	PiensoAP8	PiensoAP9	Pienso comercial
Humedad %	43.65	42.25	41.19	42.10	6.5
Cenizas totales %	15.43	6.64	5.34	8.26	10.7
Grasa Bruta %	4.67	5.57	7.34	5.94	18.0
Proteína %	34.81	37.21	35.86	40.39	51.7
Hidratos de Carbono %	1.44	8.13	10.77	3.31	13.2
Energía Kcal/100g	187	233	251	228	421
Energía Kj/100g	789	984	1056	963	1767

Tabla 1

	Bocarte pienso comercial de dorada	Bocarte salvaje 06/2010	Bocarte AP2	Bocarte AP3	Bocarte AP8	Bocarte AP9	Bocarte salvaje 10/2010
Humedad %	68	72.72	68.99	67.22	66.49	62.92	68.76
Cenizas totales %	1.8	2.21	1.92	1.75	1.87	1.74	1.34
Grasa Bruta %	11.4	1.57	8.93	11.31	11.43	16.55	10.88
Proteína %	18.7	23.07	19.71	19.35	19.83	18.38	18.73
Hidratos de Carbono %	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Energía Kcal/100g	178	108	161	181	184	224	174
Energía Kj/100g	742	458	673	754	766	932	726

Tabla 2

AMINOGRAMA %	Bocarte pienso comercial	Pienso comercial	Pienso AP2	Bocarte salvaje 06/2010	Bocarte AP2	Pienso AP3	Bocarte AP3	Pienso AP8	Bocarte AP8	Pienso AP9	Bocarte AP9	Bocarte salvaje 10/2010
Aspártico	1.3	3.8	2.46	1.71	1.26	2.26	1.22	2.14	1.21	2.38	1.13	1.17
Glutámico	2.4	7.1	4.10	3.77	2.26	3.49	2.30	3.54	2.24	4.36	2.05	2.11
Serina	0.7	2.0	2.00	0.76	0.76	1.93	0.75	1.73	0.79	1.90	0.64	0.76
Histidina*	0.9	1.5	1.44	1.65	0.04	0.91	<0.01	1.19	0.04	1.75	<0.01	0.02
Glicina	1.0	3.4	2.35	0.84	0.94	2.02	0.88	1.83	0.91	2.58	0.71	0.76
Treonina*	0.6	2.0	1.45	0.83	0.94	1.34	0.99	1.19	0.88	1.44	0.98	0.88
Alanina	1.1	3.0	5.38	1.29	2.52	4.78	2.45	4.32	2.54	5.44	2.24	2.44
Arginina*	1.2	3.1	3.60	1.36	1.72	3.51	1.74	3.20	1.72	3.43	1.54	1.58
Tirosina	0.6	1.4	1.05	0.96	0.40	0.97	0.41	0.91	0.43	0.96	0.40	0.46
Valina*	0.8	2.1	2.84	1.26	1.34	2.62	1.36	2.33	1.40	2.71	1.32	1.39
Metionina*	0.5	1.9	0.96	0.75	0.14	0.80	0.12	0.66	0.25	0.85	0.14	0.25
Fenilalanina*	0.6	1.8	3.07	0.82	1.33	2.88	1.27	2.57	1.31	2.85	1.17	1.25
Isoleucina*	0.7	2.0	2.01	1.08	1.14	1.85	1.04	1.66	1.03	1.90	1.01	1.03
Leucina*	1.2	3.2	3.00	1.60	1.51	2.82	1.45	2.53	1.53	2.90	1.37	1.46
Lisina*	1.95	3.4	1.27	0.81	1.34	3.13	1.73	2.59	1.38	1.61	1.13	1.05
Hidroxiprolina	<0.1	0.5	0.35	0.10	0.09	0.55	0.07	0.27	0.07	0.40	0.08	0.05
Prolina	0.4	2.4	2.02	0.93	0.58	1.74	0.63	1.78	0.48	2.20	0.51	0.59
Cistina	0.01	0.02	0.06	0.19	0.07	0.06	0.09	0.04	0.07	0.03	0.07	0.05
Triptófano*	0.22	0.73	0.37	0.29	0.21	0.27	0.15	0.45	0.15	0.38	0.19	0.15

Tabla 3* Aminoácidos esenciales (Dada la transformación de metionina en cistina y viceversa se marca como AAE sólo uno de ellos)

CROMATOGRAMA DE ÁCIDOS GRASOS %	Bocar te piens	Pienso comerci al	Bocarte salvaje 07/2010	Pienso AP2	Bocarte AP2	Pienso AP3	Bocarte AP3	Pienso AP8	Bocarte AP8	Pienso AP9	Bocarte AP9	Bocarte salvaje 10/2010
Láurico 12:0	n.d.	n.d.	0.41	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mirístico 14:0	4.3	6.0	4.20	4.63	4.06	3.95	3.86	4.33	5.37	6.41	4.99	11.10
Miristoleico 14:1 n-5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pentadecanoico 15:0	n.d.	<01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Palmítico 16:0	21.8	24.5	41.85	27.64	23.61	30.64	21.62	29.27	29.15	34.51	29.36	33.77
Palmitoleico 16:1 n-7	5.1	5.9	3.74	5.43	5.88	6.02	5.59	7.06	7.03	7.07	7.06	8.16
Margárico 17:0	0.8	1.0	1.68	1.22	0.73	0.96	0.62	0.81	0.84	1.34	0.67	1.29
Hexadecadienoico 16:2 n-7	0.7	0.7	0.58	0.67	0.57	0.39	0.58	0.37	0.51	0.89	0.50	1.08
Esteárico 18:0	5.4	6.7	12.33	7.82	5.31	9.01	4.91	8.38	6.60	9.33	5.91	5.39
Oleico 18:1 n-9 OA	30.0	25.0	16.54	21.13	27.16	29.13	28.16	31.29	35.69	25.04	34.77	18.02
Linoleico 18:2 n-6 AL *	9.0	8.1	2.15	7.89	5.41	8.21	5.54	7.26	4.55	3.63	3.79	1.92
Araquídico 20:0	0.5	0.3	0.56	0.42	0.32	0.51	0.33	0.61	0.38	0.69	0.43	0.34
Linolénico 18:3 n-3 ALA*	0.8	1.2	0.18	1.39	1.16	0.78	1.14	0.71	0.73	0.58	0.68	0.61
Gadoleico 20:1	5.0	3.8	2.85	1.74	2.0	3.27	2.70	3.45	2.75	2.66	2.43	4.90
Estearidónico 18:4 n-3	0.6	0.8	0.37	0.90	0.85	0.23	0.91	n.d.	0.24	0.37	0.36	0.69
Eicosadienoico 20:2 n-6	0.6	0.6	1.00	0.50	0.46	1.27	0.30	1.41	1.13	0.91	0.43	0.82
Behénico 22:0	0.2	0.3	n.d.	0.83	0.87	0.46	0.88	0.41	0.25	0.31	0.42	0.21
Erúcico 22:1 n-9	0.7	0.7	0.84	0.86	1.72	0.24	1.82	0.14	1.87	0.35	1.67	6.93
Araquidónico 20:4 n-6 AA*	4.4	4.1	3.13	0.38	0.53	2.23	0.62	2.99	0.13	1.39	0.25	0.19
Eicosapentaenoico 20:5 n-3 EPA **	3.3	3.9	1.08	4.21	5.63	0.75	6.15	0.30	1.10	1.35	2.07	1.15
Docosatetraenoico 22:4 n-6	n.d.	n.d.	1.65	0.26	0.34	0.63	0.40	0.39	n.d.	0.39	n.d.	1.09
Docosapentaenoico 22:5 n-6	1.4	1.0	0.18	0.75	1.45	0.17	1.90	0.33	0.35	0.32	0.68	0.44
Docosahexaenoico 22:6 n-3 DHA **	5.5	4.7	4.67	11.32	11.92	1.13	11.94	0.49	1.33	2.46	2.87	1.88
Σ SAFA (Saturados)	32.0	38.8	61.03	42.56	34.90	45.53	32.22	43.81	45.29	52.59	41.78	52.10
Σ MUFA (monoenoicos)	40.08	35.4	23.97	29.16	36.76	38.66	38.27	41.94	47.34	35.12	45.93	31.29
Σ n-3	10.20	10.60	6.30	17.82	19.56	2.89	20.14	1.50	3.40	4.76	5.98	4.33
Σ n-6	15.40	13.80	8.11	9.78	8.19	12.51	8.76	12.38	6.16	6.64	5.15	4.46

Σ n-9	30.70	25.70	17.38	21.99	28.88	29.37	29.98	31.43	37.56	25.39	36.44	24.95
Σn-3 HUFA	8.80	8.60	5.75	15.53	17.55	1.88	18.09	0.79	2.43	3.81	4.94	3.03
EPA/DHA	0.60	0.82	0.23	0.37	0.47	0.66	0.51	0.61	0.82	0.54	0.72	0.61
AA/EPA	1.33	1.05	2.89	0.09	0.09	2.97	0.10	9.96	0.11	1.02	0.12	0.16
OA/DHA	5.45	5.31	3.54	1.86	2.27	25.77	2.35	63.85	26.83	10.17	12.11	0.35
OA/n-3 HUFA	3.40	2.90	2.87	1.36	1.54	15.49	1.55	39.60	14.68	6.57	7.03	5.94
n-3/n-6	0.66	0.76	0.77	1.82	2.38	0.23	2.29	0.12	0.55	0.71	1.16	0.97

* Ácidos grasos esenciales (AGE) ** Para algunos autores considerados como AGE

Tabla 4

En la Tabla 4 podemos observar en este primer experimento, donde se incluyen bocartes alimentados con pienso de dorada, por cortesía del Aquarium de San Sebastián que nos facilitó las muestras para su análisis, en primer lugar que los ácidos grasos saturados aterogénicos como son el mirístico, el palmítico y el esteárico tienen valores relativamente altos en comparación con otras especies como el rodaballo, llamando la atención que los valores mas altos los tienen los ejemplares salvajes.

Que un mayor contenido corporal en EPA y DHA así como un contenido mas elevado del total de HUFA n-3, no coincide siempre con los contenidos de los mismos en los piensos y en algunos casos independiente de la adición de aceite de hígado de bacalao al pienso, resultando como el grupo AP3 que con contenidos bajos en el pienso tienen valores altos en la composición corporal. Se pueden apreciar no obstante valores muy similares en algunos grupos en la mayor parte de los contenidos en ácidos grasos de ejemplares mantenidos en cautividad si se comparan con los valores de ejemplares salvajes en la misma época del año, en principio aquellos bocarte alimentados con piensos con aceite de hígado de bacalao añadido (AP8 y AP3) parecen ser los que mas se asemejan a la composición de los bocartes salvajes para la misma época del año.

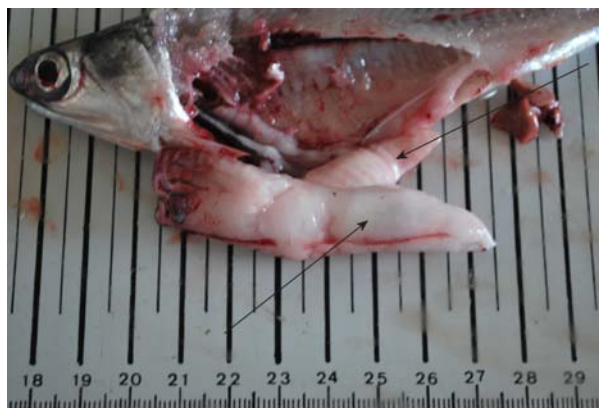
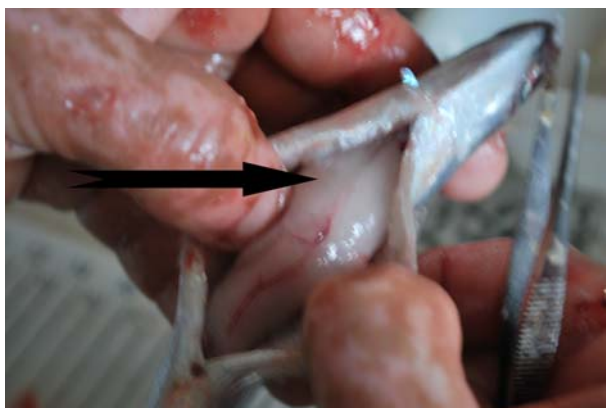
Los valores de AA son mayores en los bocartes alimentados con pienso comercial, incluso que en los salvajes.

El OA sin embargo presenta los valores mas bajos en los ejemplares salvajes en hasta un 50% aproximadamente.

El AI tiene los valores mas altos en los ejemplares alimentados en cautividad y el ALA aunque con variaciones tiene valores similares o ligeremante mas altos en los ejemplares en cautividad. Ambos son respectivamente precursores de las series n-6 y n-3 de los que a través de elongasas y desaturasas se transformarán en los 22:5n-6 (docosapentaenoico) y 22:6n-3 (docosaxeaenoico o DHA).

El total de saturados, es mayor en los salvajes, hasta un 52%.

En el segundo año y tras la detección de un engrasamiento elevado en el peritoneo de entre un 5.0-6.5%, como valores mas abundantes hasta un 21,5% del peso total, descontando el peso de la grasa. La grasa llega a manifestarse a veces exteriormente por acumulación también en el hocico.



Las flechas indican el acúmulo de grasa en el peritoneo rodeando visceras y aparato digestivo en un caso de máxima acumulación.

Esto llevó a formular dos tipos de piensos, iguales para todos los grupos, estableciéndose que uno se administró previamente al periodo de maduración gonadal, reposo, inicio de maduración, con el fin de intentar que perdieran la mayor cantidad de grasa posible del peritoneo, que pudiera impedir el desarrollo gonadal, denominado pienso PA y consistente en:

- Harina total 50% (70% harina de pescado + 30% harina de soja)
 - Pasta de pescado 50% (70% de lirio (bacaladilla) + 30% de chicharrillo)
 - Premix vitamínico mineral, ya descrito.
 - L-Carnitina 0,50 g/k de peso húmedo, para reducir la acumulación de grasa.
- Y el segundo suministrado a los seis meses después del anterior, mas adaptado para la preparación del periodo de puesta, que en el medio natural comienza a mediados de mayo y tiene su mayor pico en el mes de junio. Este pienso denominado pienso PB consistió en:

- Harina 50% (Harina de pescado 100%)
- Pasta de pescado 40% + 10% de pasta de crustáceo, calamar y mejillón.
- Aceite de hígado de bacalao 25 ml/k de peso húmedo de pienso
- L-carnitina 0,25 g/k de peso húmedo de pienso.
- Premix vitamínico mineral, ya descrito.

Los análisis de los pescados alimentados con ambos piensos fueron efectuados al final de cada periodo de alimentación experimental y se comparan con ejemplares juveniles coincidentes con el periodo de alimentación con pienso PA y de otra parte aquellos alimentados con el pienso PB se comparan al final del periodo con ejemplares salvajes adultos.(Tablas 5-6-7).

Análisis bioquímicos de piensos y bocarte en ambos periodos y tipos de piensos.-

	PA	AP2_A	AP3_A	AP5_A	AP8_A	Salv_juv	PB	AP2_B	AP3_B	AP8_B	AP9_B	Salv_adu
Humedad (100°C)%	38.65	64.82	61.26	69.56	61.91	77.04	44.94	70.98	69.84	68.02	72.98	72.07
Cenizas totales (550°C)%	11.23	2.17	1.98	1.83	2.01	1.78	5.20	2.86	2.22	2.43	1.95	2.09
Grasa Bruta (Hidrólisis ácida)%	10.58	14.85	19.56	10.06	19.48	0.81	4.57	6.54	8.36	9.02	4.67	4.37
Proteína (Nx6,25)%	39.10	17.70	17.13	18.02	16.56	20.36	45.08	19.59	19.39	20.24	20.28	21.20
Hidratos de Carbono%	<0.5	<0.5	<0.5	0.53	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Energía Kcal/100g	253	206	245	165	242	89	222	137	154	163	124	125
Energía Kj/100g	1064	858	1016	688	1003	376	939	576	642	683	520	527

Tabla 5

AMINOGRAMA %	PA	AP2_ A	AP3_ A	AP5_ A	AP8_ A	Salv_ ju v	PB	AP2_ B	AP3_B	AP8_ B	AP9_ B	Salv_ adu
Aspártico	3.31	2.14	2.13	2.02	1.99	2.17	3.73	1.99	2.00	1.92	2.09	2.09
Glutámico	5.09	3.29	3.32	3.18	3.11	3.17	5.31	2.99	3.01	2.88	3.07	3.22
Serina	1.44	0.88	0.85	0.79	0.77	0.89	1.60	0.72	0.75	0.70	0.78	0.82
Histidina*	0.85	1.22	1.18	1.15	1.08	1.07	1.39	0.49	0.62	0.54	0.67	1.16
Glicina	1.61	1.16	1.11	1.05	1.03	1.20	2.57	0.88	0.97	0.89	1.00	0.99
Treonina*	1.46	1.10	1.06	0.98	0.95	1.12	2.01	0.81	0.90	0.80	0.95	1.00
Alanina	1.75	1.40	1.44	1.37	1.29	1.45	2.46	1.27	1.37	1.21	1.38	1.21
Arginina*	2.03	1.35	1.26	1.20	1.19	1.30	2.25	1.05	1.12	0.99	1.18	1.15
Tirosina	1.14	0.85	0.82	0.80	0.77	0.58	1.34	0.69	0.70	0.70	0.74	0.78
Valina*	1.80	1.32	1.30	1.24	1.29	1.37	2.30	1.29	1.28	1.27	1.28	1.18
Metionina*	0.65	0.67	0.64	0.61	0.59	0.72	1.09	0.60	0.59	0.65	0.62	0.52
Fenilalanina*	1.37	1.01	0.90	0.86	0.85	1.09	1.80	1.08	1.10	0.98	1.09	0.88
Isoleucina*	1.52	1.18	1.10	1.01	1.02	1.24	1.86	1.09	1.09	1.08	1.11	0.97
Leucina*	2.45	1.74	1.78	1.69	1.61	1.74	3.00	1.50	1.74	1.55	1.67	1.54
Lisina*	2.38	1.64	1.77	1.64	1.65	1.67	3.50	1.52	1.68	1.49	1.60	1.64
Hidroxiprolina	0.14	0.062	0.060	0.058	0.057	0.066	0.34	0.050	0.052	0.045	0.051	0.054
Prolina	1.45	0.77	0.75	0.69	0.67	0.74	1.60	0.61	0.71	0.62	0.62	0.66
Cistina	0.16	0.10	0.10	0.11	0.10	0.12	0.32	0.11	0.12	0.10	0.14	0.10
Triptófano*	0.45	0.26	0.28	0.24	0.22	0.28	0.53	0.23	0.26	0.21	0.28	0.23

Tabla 6

Aunque el valor mas alto de lisina es el del pienso PB, los valores en los peces son muy similares y también en cada caso con el correspondiente grupo de ejemplares salvajes, situaciones similares se dan para el resto de aminoácidos.

CROMATOGRAMA DE ÁCIDOS GRASOS %	PA	AP2_A	AP3_A	AP5_A	AP8_A	Salv_juv	PB	AP2-B	AP3_B	AP8_B	AP9_B	Salv_adu
Láurico 12:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mirístico 14:0	5.91	4.61	6.52	7.64	7.03	4.49	4.19	4.66	4.35	4.59	4.02	9.68
Miristoleico 14:1 n-5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pentadecanoico 15:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Palmitico 16:0	21.88	21.61	34.08	39.60	33.53	46.34	19.17	25.99	23.15	24.01	25.58	48.13
Palmitoleico 16:1 n-7	5.97	5.65	6.58	5.40	6.14	2.16	2.96	4.87	5.00	5.19	3.77	4.42
Margárico 17:0	0.79	0.73	0.65	0.76	0.88	1.63	0.51	0.78	0.64	0.64	0.63	1.32
Hexadecadienoico 16:2 n-7	0.60	0.59	0.38	1.06	0.52	n.d.	0.44	0.55	0.54	0.54	0.42	n.d.
Esteárico 18:0	5.45	4.27	6.56	7.57	7.37	12.40	4.64	6.18	5.53	5.60	6.58	7.98
Oleico 18:1 n-9 OA	19.33	25.73	38.47	33.76	33.60	18.51	13.81	26.84	31.66	28.67	27.63	21.10
Linoleico 18:2 n-6 AL *	2.87	3.77	1.21	0.83	1.92	1.97	18.24	6.70	7.55	8.21	4.13	1.36
Araquídico 20:0	0.69	0.20	0.32	0.43	0.34	n.d.	0.23	0.23	0.52	0.62	0.55	n.d.
Linolénico 18:3 n-3 ALA*	1.08	0.97	n.d.	n.d.	0.13	n.d.	2.76	1.06	1.22	1.22	0.66	n.d.
Gadoleico 20:1	3.44	2.09	2.67	2.08	4.04	n.d.	2.37	2.72	3.51	3.05	2.18	n.d.
Estearidónico 18:4 n-3	1.71	1.06	0.68	n.d.	1.15	n.d.	1.36	0.64	0.45	0.49	0.49	n.d.
Eicosadienoico 20:2 n-6	0.35	0.31	n.d.	n.d.	0.28	n.d.	0.25	0.39	0.51	0.44	0.38	n.d.
Behénico 22:0	0.84	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.20	0.77	0.61	0.67	0.95	n.d.
Erúxico 22:1 n-9	2.98	0.97	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.85	1.78	2.80	2.38	1.56	n.d.
Araquidónico 20:4 n-6 AA*	0.72	1.21	1.32	n.d.	2.34	n.d.	3.96	0.36	0.49	0.47	0.41	n.d.
Eicosapentaenoico 20:5 n-3 EPA **	7.34	6.63	n.d.	n.d.	n.d.	2.42	6.93	3.52	2.95	3.53	3.89	1.28
Docosatetraenoico 22:4 n-6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Docosapentaenoico 22:5 n-6	1.83	1.79	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.09	1.07	1.21	1.36	1.46	n.d.
Docosahexaenoico 22:6 n-3 DHA	15.72	16.70	n.d.	n.d.	n.d.	8.36	14.97	10.61	7.0	8.05	14.35	3.28
Σ SAFA (Saturados)	35.56	31.52	48.05	56.00	49.15	54.86	28.94	38.61	34.8	36.13	38.31	67.11
Σ MUFA (monoenoicos)	31.72	34.44	47.65	41.24	43.78	20.67	19.99	36.21	42.97	39.29	35.14	25.52
Σ n-3	25.85	25.36	0.68	0.00	1.28	10.78	26.02	15.83	11.62	13.29	19.39	4.56
Σ n-6	5.77	7.08	2.53	0.83	4.54	1.97	23.54	8.52	9.76	10.48	6.38	1.3 6
Σ n-9	22.31	26.70	38.40	33.76	33.60	18.51	14.66	28.62	34.46	31.05	29.19	21.10
Σn-3 HUFA	23.06	23.33	0	0	0	10.78	21.9	14.13	9.95	11.58	18.24	4.56
EPA/DHA	0.46	0.39	0	0	0	0.28	0.46	0.33	0.42	0.43	0.27	0.39
AA/EPA	0.09	0.18	-----	0	-----	0	0.57	0.10	0.16	0.13	0.10	0
OA/DHA	1.22	1.54	-----	-----	-----	2021	0.92	2.52	4.52	3.56	1.92	6.43
OA/n-3 HUFA	0.74	1.01	56.47	-----	26.25	1.71	0.53	1.69	2.72	2.15	1.42	4.62
n-3/n-6	4.48	3.58	0.26	-----	0.28	5.47	1.10	1.85	1.19	1.26	3.03	3.35

Tabla 7

Como en el año anterior, los ácidos saturados aterogénicos aun teniendo valores relativamente altos, si embargo los ejemplares salvajes tanto juveniles como adultos tienen los valores mas altos, siendo el total de saturados hasta un 46,96% mayor en los salvajes en los valores extremos.

El total de monoenoicos es mayor cuanto menos aceite e hígado de pescado es añadido al pienso.

El porcentaje tanto de EPA como DHA y suma de n-3 HUFA es mas alto en aquellas dietas con mayor harina de pescado y con aceite de hígado de bacalao añadido.

Los valores mas altos de AA se dan en los ejemplares alimentados sin aceite de pescado.

Los valores de OA son muy similares con ambos piensos y en ambos casos superiores a los valores en ejemplares salvajes.

El AI y el ALA tienen los valores mas altos en ejemplares alimentados con aceite de pescado.

Las mejores relaciones n3/n6 son las del grupo alimentado con pienso PB y también los valores mas altos de n-3 (EPA Y DHA) incluso frente a los ejemplares adultos salvajes.

Durante el tercer año, el proyecto estuvo abierto en calidad de aprobada en el IEO, aunque sin dotación económica alguna. A comienzos de 2013, el Gobierno de Cantabria efectuó el ingreso de la última anualidad y hubo de reabrirse el proyecto, realizándose las acciones posibles correspondientes. No obstante la que hubiera sido mas interesante, la captura de ejemplares salvajes en prepuesta para poder aprovechar esta de inmediato, no fue posible, de una parte por razones administrativas sobre alquiler de barco, etc., en el corto espacio de tiempo y de otra insalvable la situación de los bancos de bocarte, muy alejados del puerto de Santander lo que en opinión de los patrones consultados harían inviable el traslado con ciertas garantías de ejemplares vivos hasta este puerto.

Se presentan conjuntamente y por razones prácticas los análisis de ejemplares con cinco y tres años en cautividad para las mismas fechas de los análisis correspondientes de ejemplares salvajes en época de puesta y en salazón de la misma época pero lógicamente del año anterior.(Tablas 8-9-10).

Tabla 8

	5 Años	3 Años	Boc salv. (06/2013)	Salazon(1 año)
Humedad (100°C)%	68.72	63.83	76.26	51.02
Cenizas totales (550°C)%	2.33	1.61	1.53	16.55
Grasa Bruta (Hidrólisis ácida)%	10.46	14.55	2.08	5.28
Proteína (Nx6,25)%	20.79	19.24	21.44	26.60
Hidratos de Carbono%	<0.50	0.77	<0.50	0.55
Energía Kcal/100g	168	211	99	156
Energía Kj/100g	701	879	419	657

AMIINOGRAMA %	5 Año s	3 Años	Boc salv. Prepu esta 2013	Salazon (1 año)
Aspártico	1.92	1.88	1.85	2.60
Glutámico	2.91	2.79	2.75	3.48
Serina	0.67	0.65	0.66	1.11
Histidina*	0.72	0.71	0.79	1.29
Glicina	0.98	0.82	0.81	1.26
Treonina*	0.84	0.83	0.87	1.25
Alanina	1.14	1.07	1.11	1.53
Arginina*	1.18	1.11	1.08	1.69
Tirosina	0.64	0.65	0.67	0.82
Valina*	1.01	1.06	1.14	1.67
Metionina*	0.60	0.58	0.54	0.78
Fenilalanina*	0.76	0.76	0.75	1.19
Isoleucina*	0.82	0.83	0.86	1.36
Leucina*	1.38	1.37	1.44	1.87
Lisina*	1.21	1.20	1.41	2.06
Hidroxiprolina	0.11	0.07	0.06	0.07
Prolina	0.68	0.59	0.59	0.87

Cistina	0.21	0.21	0.23	0.30
Triptófano*	0.34	0.32	0.24	0.69

* AA esenciales

Tabla 9

CROMATOGRAMA DE ÁCIDOS GRASOS %	5 Años	3 Años	Boc salv. Prepu esta 2013	Salazon(1 año)
Láurico 12:0	0.1	n.d	n.d.	0.45
Mirístico 14:0	7.1	6.9	5.91	9.44
Miristoleico 14:1 n-5	n.d	n.d	n.d.	n.d.
Pentadecanoico 15:0	n.d	n.d	n.d.	n.d.
Palmitico 16:0	29.	28.	23.57	40.07
Palmitoleico 16:1 n-7	7.3	7.2	5.37	5.15
Margárico 17:0	0.8	1.1	1.31	1.64
Hexadecadienoico 16:2 n-7	0.7	n.d	0.50	0.54
Estearico 18:0	6.4	5.9	5.20	8.57
Oleico 18:1 n-9 OA	32.	35.	8.77	4.68
Linoleico 18:2 n-6 AL *	2.9	2.2	1.45	1.67
Araquídico 20:0	0.2	0.5	n.d.	0.70
Linolénico 18:3 n-3 ALA*	n.d	2.2	1.45	4.70
Gadoleico 20:1	0.4	2.7	5.09	0.42
Estearidónico 18:4 n-3	n.d	n.d	n.d.	n.d.
Eicosadienoico 20:2 n-6	0.1	n.d	n.d.	n.d.
Behénico 22:0	1.0	1.0	0.38	0.39
Erúico 22:1 n-9	2.3	2.2	0.96	7.41
Araquidónico 20:4 n-6 AA*	2.0	1.5	0.45	n.d.
Eicosapentaenoico 20:5 n-3 EPA **	n.d	n.d	8.87	3.83
Docosatetraenoico 22:4 n-6	n.d	n.d	n.d.	n.d.
Docosapentaenoico 22:5 n-6	0.7	0.6	1.20	0.35
Docosahexaenoico 22:6 n-3	3.6	2.1	29.96	8.13
Σ SAFA (Saturados)	45.	44.	36.37	61.26
Σ MUFA (monoenoicos)	42.	47.	20.19	17.66
Σ n-3	3.6	4.3	40.28	16.66
Σ n-6	5.8	4.4	3.10	2.02
Σ n-9	34.	37.	9.73	12.09
Σ n-3 HUFA	3.6	2.1	38.83	11.96
EPA/DHA	----	----	0.29	0.47
AA/EPA	----	----	0.05	-----
OA/DHA	8.9	17.	0.29	0.57
OA/n-3 HUFA	8.9	17.	0.22	0.39
n-3/n-6	0.6	0.9	12.99	8.24

Tabla 10

Los bocartes mantenidos en cautividad se alimentaron con el pienso denominado PB del año anterior y salvo algunos casos como el AA (Araquidónico) se puede decir que los resultados son muy similares.

En cuanto a los ejemplares salvajes con respecto a años anteriores los valores de los ácidos grasos saturados aterogénicos como el palmítico y el esteárico son algo mas bajos que en otros análisis. Así como el total de SAFA, lo que al no coincidir con épocas exactas podría ser debido a la mayor proximidad a la puesta. El linolénico (ALA) presenta también valores mas altos así como el EPA y DHA. Todo ello sea dicho con las mayores reservas, al comparar con años anteriores y los posibles estados metabólicos de la época y factores ambientales. Es de señalar como en la mayoría de los ejemplares de crianza, que la grasa bruta es mayor que la de los ejemplares salvajes.

También en la comparación con el salazón habría que hacer esta salvedad, pero en cualquier caso los valores de los ácidos saturados son considerablemente mayores. El ALA (linolénico) es también mayor y el linoleico (AL) muy similar. En cuanto al EPA y DHA así como al total de n-3 HUFA son considerablemente menores en el salazón (43,1%; 27,13%; 30,80%, respectivamente).

La relación n3/n6 aunque no es buena en ningún caso es mejor en el salazón.

6. Muestreos biométricos.

En principio y para evitar situaciones de estrés o daños en los individuos, y aunque estaba prevista la anestesia y muestreo de ejemplares, dada la

importancia de mantener el mayor número posible como reproductores no se consideró practicable para no arriesgar la supervivencia de los mismos. No obstante se aprovecha para realizar un muestreo y valorar el estado sexual cuando se extraen muestras para análisis bioquímicos. El peso y talla media iniciales fueron tomados de los individuos de la inevitable mortalidad inicial. La ingesta diaria estimada es de un 5/6% diarios sobre el peso estimado del stock, según la temperatura del agua.



6.1 Datos biométricos

Tallas y pesos al comienzo de la experiencia y después del primer año en cautividad

Tanques	Media longitud cm±SD	Media peso g ±SD	$K = \text{Peso} / \text{Longitud}^3 \times 100$ Factor de condición
Comienzo de la experiencia	14±0.74	17.28±3.36	0.62
AP2	15.15±1.21	28.44±4.13	0.81
AP3	15.46±1.02	29.22±8.37	0.79
AP8	14.66±0.94	28.0±7.83	0.88
AP9	15.0±0.81	28.0±8.60	0.83

Tallas y pesos al final de la experiencia

	Media cm±SD	Media g±SD	$K = \text{Peso} / \text{Longitud}^3 \times 100$ Factor de condición
General todos tanques	16.70±0.91	32.26 7.09	0.77±0.14

Teniendo en cuenta que cuanto mayor es el índice de condición este nos indica que puede haber un engrasamiento debido a una dieta hipercalórica, creciendo mas en grosor que en longitud. No obstante se considera un buen índice para cultivo cuando se encuentre entre valores de 1 y 2. Sin embargo en este caso sería de interés aproximarse a los valores de los ejemplares salvajes puesto que irían destinados a conserva donde tiene gran importancia el tamaño, grosor y contenido graso de los filetes. Es decir que no importa tanto un buen crecimiento en peso, como un buen equilibrio entre longitud, anchura y grosor de los filetes, así como lógicamente el aspecto, composición bioquímica y textura de los mismos, hay que tener en cuenta que al final de la experiencia y aunque los valores anteriores tendrían valores adecuados para las pretensiones del trabajo, el valor de K para el rango de talla es algo mas bajo.

Los porcentajes de grasa peritoneal, en aquellos ejemplares que lo manifestaron, al final de la experiencia, un 65%, tienen una media de un 2, 56% con mínimos de 0,58 y máximos de 5.92%, valores en general bastante menores a la primera vez que fue detectado el problema.

Los datos obtenidos de los piensos empleados citados, y la comparación de los ejemplares alimentados con ellos y los ejemplares salvajes, nos permiten hacer unas estimaciones de gran importancia para la confección y aproximación a un pienso adecuado, teniendo en cuenta aún el corto periodo de tiempo en las experiencias. Una primera valoración de ello nos lleva a aproximarnos en el contenido graso y el equilibrio con la digestibilidad y la cantidad de proteína

suministrada dependiente del grado de humedad del alimento. Todo lo cual nos permitiría poder actuar sobre los ejemplares para obtener filetes de calidad y contenido graso en distintas épocas.



Filetes de anchoa de 15 cm recién sacrificada (extraídos para análisis bioquímicos), puede apreciarse el color y brillo de los mismos.

7. Inducción a la puesta y cultivo larvario

7.1. Síntesis de los sistemas de cultivo del alimento vivo, para alimentación larvaria: cultivos auxiliares.

Se exponen previamente, los métodos necesarios en la producción de alimento vivo necesario para la cría larvaria.

7.1.1. Microalgas (*Tetraselmis sp.* e *Isochrysis sp.*)



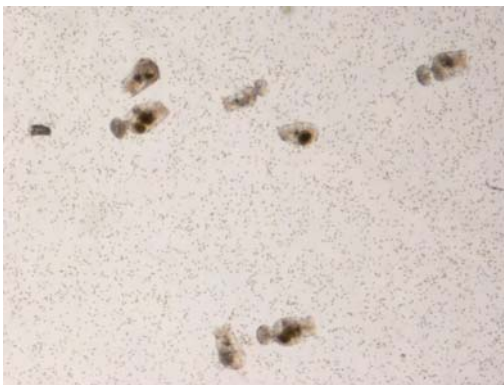
Izquierda: *Tetraselmis sp.* (arriba); *Isochrysis sp.* (abajo). Sala de cultivo de microalgas (derecha)

Las microalgas son cultivadas en matraces estériles de 250 y 500 ml y 5000 ml. Los de menor volumen se utilizan como inóculos de los siguientes en resiembras de un 10/15% según la densidad celular, este mismo proceso se repite para sembrar los matraces de 5000 con los de 500 ml. Con los matraces de mayor volumen se siembran bolsas de plástico de 50 l colgadas verticalmente. El agua de mar se filtra a una micra y se pasa por un esterilizador de radiaciones ultravioleta (UV) germicidas. Como nutrientes se utiliza el medio de enriquecimiento ampliamente conocido como Walne o el medio F2. Las resiembras se hacen cada dos días, siendo el tipo de cultivo a término (producción total al final del ciclo).

La habitación está permanentemente iluminada mediante tubos Growth-Lux o lámparas de haluros metálicos (MH) de 400W. La temperatura se mantiene a $19\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Son utilizadas para enriquecimiento de rotíferos y artemias y añadido al agua de cultivo larvario durante los periodos de no renovación para mantener a los rotíferos y artemias del medio alimentados, de manera que no pierdan valor nutritivo para las larvas.

7.1.2. Rotífero (*Brachionus plicatilis*)



Rotíferos (el fondo, microalgas)

Tanque de cultivo de 12 m³

El rotífero, con una longitud de 90-150 μ , se cultiva en agua de mar con una salinidad 16/17 g/l filtrada a una micra y desinfectada mediante cloro, en tanques de hormigón de 12 m³.

7.1.3. Desinfección del agua de mar para su cultivo .

Por razones de costo, el hipoclorito sódico es mas barato que el cloro gaseoso, se utiliza por tanto la lejía obteniéndose desinfecciones con residuos de 1 mg/l de cloro libre y un tiempo de contacto de media hora. Después de tratada el agua se neutraliza el cloro con tiosulfato sódico de los que son necesarios 1.77 mg por cada mg de cloro eliminado. La reacción es inmediata.

7.1.4. Alimentación

Consiste en levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*) que se añade a razón de 1g por cada millón de rotíferos desleída en agua y repartida cada 8 horas. Si la densidad de rotíferos por ml es de 200 o más, se añaden 0.75g por millón.

7.1.5. Protocolo de mantenimiento

Para todo esto es necesario hacer un conteo diario de una muestra de cada tanque. Simultáneamente se recuenta también el número de hembras que portan huevos para calcular la fecundidad, si esta es menor de un 20% se añade, Protein-Selco o fitoplancton.

Los tanques son rectangulares de cemento recubiertos de resina atóxica, el volumen total de cada tanque es de 12 metros cúbicos y la temperatura se mantiene alrededor de los 22 °C, mediante resistencias termostatas, con lo que el tiempo entre dos generaciones es de tres días aproximadamente.

7.1.6. Producción

Cuando el tanque se encuentra en producción y con concentraciones por encima de los 200 ind/ml se puede “cosechar” hasta un 20/25% de su volumen. Los tanques se pueden mantener en producción de 7 a 10 días resemebrándolos al cabo de estos, inoculando un tercio del volumen y aumentando el volumen diariamente en un 10%. También son cultivados de forma similar en tanques de PRFV de forma cilíndrica y de un volumen de 900 l.

7.1.7. Enriquecimiento

Antes de ser suministrados a las larvas, se depuran en agua filtrada a 1 micra durante al menos entre 2-4 horas. A continuación se enriquecen con alimento comercial (Protein-Selco) a 24°C durante 3-4 horas o con fitoplancton.

7.1.8. Artemia (*Artemia* sp.)



Nauplii



Metanauplii



Eclosionadores para Artemia

La Artemia se adquiere en huevos bajo la forma de cistes normalmente envasados al vacío, clasificados en diferentes cepas según su procedencia, tamaño, etc.

Para su utilización como alimento para larvas es necesario incubarlos hasta su eclosión; para ello se sigue el siguiente procedimiento:

7.1.9.Desinfección

Se mantienen 50 g de cistes por cada litro de agua con lejía de 200 mg/l de cloro activo durante 20 minutos.

7.1.10.Incubación-eclosión.

Los cistes desinfectados se instalan en los tanques de eclosión, de forma prismopiramidal, opacos a excepción de los dos tercios inferiores que es de PVC transparente, con agua de mar filtrada a 1 micra, desinfectada y a una temperatura de 25 a 30°C , provistos de una iluminación que proporciona 2000 lux durante toda la incubación y una fuerte aireación. La densidad de cistes será de 2 g/l.

A las 24 horas habrán nacido los *nauplii*, con una longitud de 350-500 μ , los cuales se recogen en una malla de 150 micras de la siguiente manera: se quita la aireación, se cubre la parte superior del tanque de manera que no penetre la luz y se ilumina la parte transparente inferior a los 10 o 15 minutos el *nauplii* se habrá concentrado en la luz y el ciste no eclosionado flotará en la superficie, pudiéndose entonces extraer los *nauplii* separados de los restos de los cistes.

Existe otro método mediante descapsulación con lejía y sosa cáustica cuya reacción eleva la temperatura por encima de los 40°C y requiere de su enfriamiento para no dañar al embrión y que no es mas seguro ni económico ni rápido y en cuanto a las tasas de eclosión, no presentan diferencias.

Esta operación puede hacerse a diario o en una vez para varios días manteniendo los cistes descapsulados, o los *nauplii*, con introducción de oxígeno, en frío.

7.1.11.Enriquecimiento.

El *nauplii* de Artemia no tiene excesivo valor nutritivo por si mismo sobre todo en cuanto a ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) por lo cual se les mantiene entre 6 y 12 horas antes, en un baño de enriquecimiento compuesto de ácidos grasos altamente insaturados (n-3 HUFAs) con altos contenidos de EPA y DHA. (Selco-DHA, 300 mg/l de agua y *nauplii* entre 100000-200000) a temperaturas entre 25-30°C y oxigenación (≥ 4 mg/l de O₂).

7.1.12.Producción de *metanauplii*.

Se lleva a cabo en tanques tipo eclosionadores o cilindrocónicos, en concentraciones de 500/700 indiv./ml con aireación e introducción de oxígeno para mantener saturaciones próximas al 100% y alimentados con microencapsulados comerciales o fitoplancton. Si se llevan a *metanauplii* de 72-96 horas cada 24 se renueva filtrando un tercio del volumen de agua, para mantener la calidad de ésta y se alcanzan tallas de 750-900 μ de longitud.

La finalidad de utilizar *metanauplii* es la de adaptar el tamaño de la presa a las necesidades de la alimentación de las larvas al aumentar estas de tamaño.

7.2. Inducción a la puesta mediante fotoperiodo y temperatura

Al comienzo de la experiencia, en el primer año, los ejemplares estabulados en estado de pospuesta procedentes de capturas efectuadas con motivo del proyecto mencionado con anterioridad en conjunto con AZTI, Aquarium y Universidad de Oviedo, fueron utilizados para esta experiencia. La proporción de sexos, estimada tras la determinación de la misma en los ejemplares muertos en el transporte, es la siguiente: machos 65.78%; hembras 31.57% e indeterminados un 2.63%. Por tanto la proporción machos/hembras sería de 2:1.

Tras el periodo de reposo gonadal un grupo de unos 60 individuos estabulados en un tanque de 16 m³ fueron sometidos a una inducción a la maduración gonadal mediante fotoperiodo y temperatura. Las condiciones lumínicas fueron las descritas en el apartado de Iluminación. El fotoperiodo al que fueron sometidos fue el de 17/7 h L/O (Luz/Oscuridad). La temperatura ambiente se ajustó para mantenerse en los 19°C de acondicionamiento para la maduración gonadal.

A los tres meses de mantener estas condiciones se realizó un sondeo para comprobar el estado de desarrollo gonadal, casualmente fue extraído el mismo número de machos que de hembras. Los machos mas avanzados se encontraban en estado de desarrollo, sin soltar esperma al hacer presión. En el caso de las hembras mas avanzadas los diámetros de los ovocitos, ovoides, fueron de 0.66/0.73mm diámetro mayor y 0.33 mm de diámetro menor. Las mismas medidas en un huevo maduro que se pudieron obtener de ejemplares maduros de capturas que soltaron espontáneamente una muy pequeña

cantidad de huevos maduros y alguno embrionado es de 1.38/1.40x0.66 mm por término medio (ver fotografías).

En ejemplares mantenidos a temperatura ambiente, el desarrollo gonadal era todavía incipiente.



Ejemplar macho en inducción a la maduración con sus gónadas extraídas.

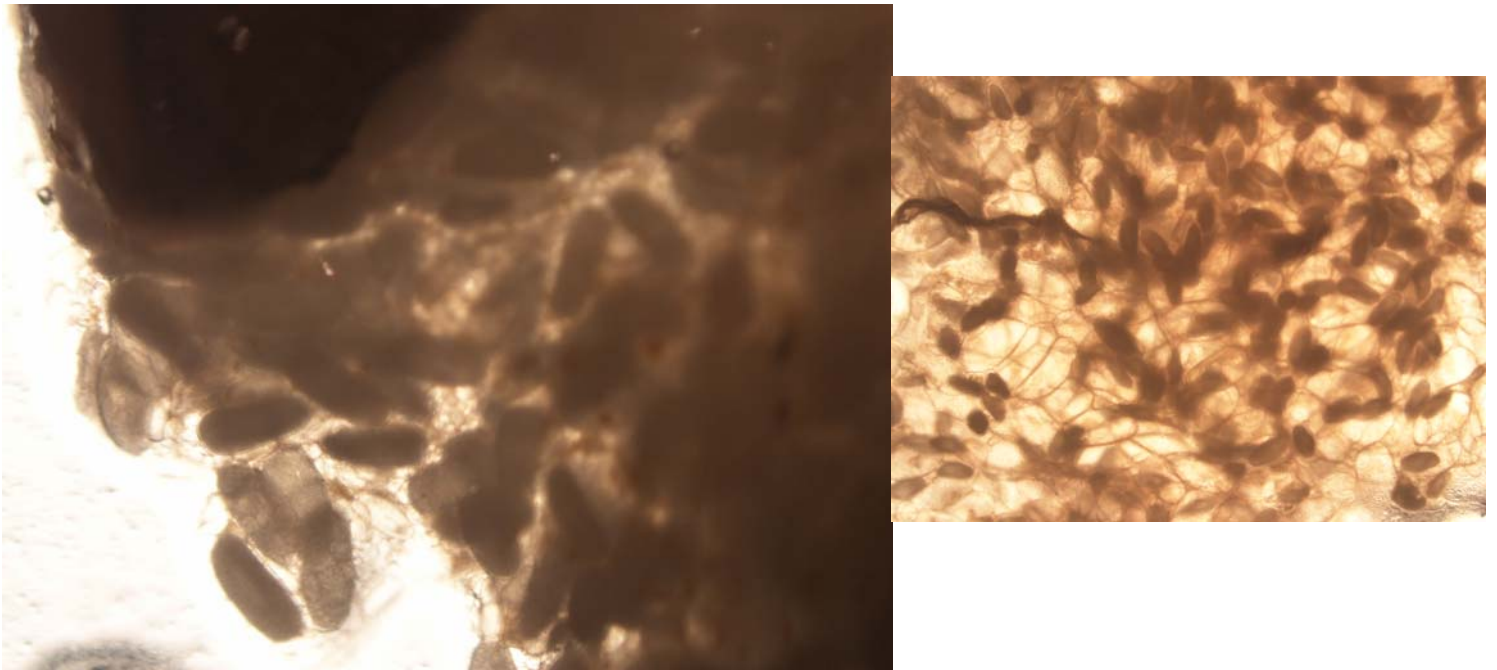
Testículos (izquierda) y ovarios (derecha) de bocarte inducido a la maduración



Ovario de hembra salvaje (misma época, nótese la diferencia de tamaño con el de cautividad)



Gónadas con ovocitos en maduración



Se pueden apreciar en el ovario, ovocitos en maduración con diferentes tamaños y zonas de ovocitos liberados de ejemplares inducidos a la puesta en cautividad.

7.3. Recogida de huevos

Los huevos fecundados son recogidos de la superficie del agua, haciendo salir ésta por un rebosadero en comunicación con un sistema en el que el agua penetra por el fondo de un embudo sumergido y sale a través de una malla de 500 μm quedando los huevos retenidos y flotando en la parte del embudo de mayor superficie donde la corriente del agua es mas suave y por tanto sin sufrir daños hasta su recogida diaria.



Sistema para recogida de huevos

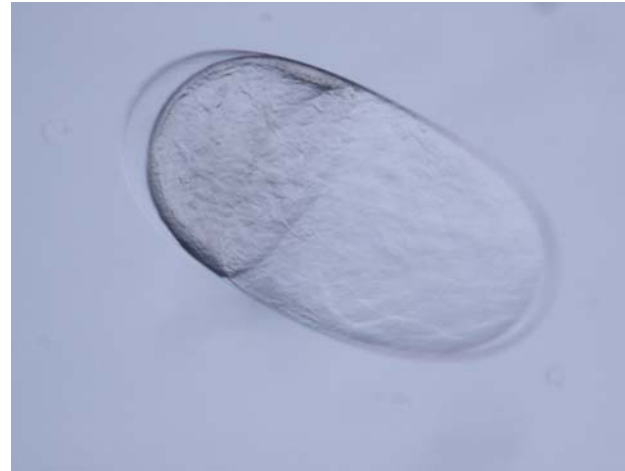
Las puestas en cautividad tienen un retardo con respecto al pico de puestas naturales de tal manera que se extienden desde mediados de junio de junio y hasta mediados de septiembre, con temperaturas del agua de entre 18 y 20°C. Las hembras, como en el medio natural tienen ciclos ovulatorios, es decir que el ovario no madura simultáneamente.

7.4. Estadíos larvarios.

Para la clasificación de los diferentes estadíos de huevos y larvas, nos basamos en Moser, H.G. & Ahlstrom, E. H., 1975.



Huevos no viables



Huevo en estado III (medio)



Huevo en estado IV-V



Huevo en estado V-VI



Huevo en estado VIII



Huevo en estado X



Huevo en estado IX y larva recién nacida



Larva de 3.3 mm reabsorbiendo el s.v.

La media del tamaño de huevos de ejemplares salvajes recién capturados es de 1,39 x 0,66 x 0.66 mm lo cual considerándolo como es, un elipsoide (esferoide) representa un volumen de 0.317 mm³.

La media de los huevos obtenidos en cautividad en esta primera puesta es de 1.29 x 0.59 x 0.59 mm lo cual representa un volumen de 0.235 mm³. En las medidas de los ejes representa un 7% menor para los ejes mayores y un 11% menor para los menores lo cual supone un 26% menor en volumen, todo lo cual acarreará un menor tamaño de larva con un menor tamaño de saco vitelino y consecuentemente un menor desarrollo larvario posterior.



Larva con el s.v. casi reabsorbido, a punto de abrir la boca



Larva de 8.7 ± 0.47 mm.



Larva similar al estadio anterior,
se pueden observar partículas alimenticias en el digestivo



Larva de 14 días: $10,12 \pm 0.69$ mm.
(Aleta caudal con el urostilo a punto de formar la horquilla)

7.5. Incubación y cría larvaria

Los huevos fueron incubados con una temperatura de entre 20-21°C y un 88-90% de saturación de oxígeno, en estas condiciones y partiendo de un estado de mórula el tiempo en eclosionar es de 20.7 °D (los días-grado que se obtienen multiplicando el número de días hasta un determinado estadio por la media diaria de la temperatura del agua en °C.).

La larva al nacer tiene una longitud media de $3,16 \pm 0,317$ mm y abren la boca en 89.6 °D y una longitud de 3.93 ± 0.321 mm. alcanzando a los 14 días $10,125 \pm 0.689$ mm.

El agua tanto para la incubación como para la cría larvaria se filtra a una micra e través de cartuchos de orlón. Se analiza el pH (valores de ± 7.6) oxígeno (superior al 85%) y amonio para que no supere valores de 0.001 mg/l mediante renovaciones de agua.

Las larvas en lugar de ser alimentados en principio con dinoflagelados (Theilacker, G, 1987; Lasker, R., *et al* 1970; Garrido, S., *et al*, 2012) fundamentalmente *Gymnodinium sp.* según técnica de cultivo de estos dinoflagelados descrita por Lasker, R. *et al*, *op cit.*, y la adición de larvas veliger o copepoditos, que han sido empleados entre otros por los autores citados anteriormente tanto en *E. mordax* como en *E. encrasicolus*, se les suministró como alimento, microalgas, *Tetraselmis sp* e *Isochrysis sp.* (15.000 cel/ml), Se añadieron también microencapsulados, buscando tamaños de partículas de 40 µm equivalentes a tallas de dinoflagelados utilizados en cultivos de *E. mordax* hasta partículas de 80 µm* y rotíferos (100-150 µm) en densidades de 8-10 rot./ml cebados previamente con las microalgas citadas anteriormente un 50% y el otro 50% enriquecidos con Protein-Selco.

* MICROENCAPSULADOS

Los microencapsulados comerciales fueron, “Royal Caviar” de Bernaqua 5-50 µm (compuesto fundamentalmente de Krill, Pescado azul, harina y lecitina de soja, harina de calamar, aceite de pescado purificado, vitaminas y minerales. “Gemma micro 75” de Skretting (compuesto de harinas de algas y pescado, lecitina, vitaminas y minerales).

El número de huevos por puesta fue muy escaso y como ocurre con otros autores de la literatura científica no se alcanza el tamaño necesario de la larva como para la ingesta de Artemia o quizás de algún tipo de sustituto tipo microparticulado.

8.- Patologías

Durante el periodo considerado (mes de mayo) se presentó una patología bacteriana de cierta importancia, con distinta incidencia entre los tanques, siendo el AP2 el mas afectado y cuyas bacterias causantes fueron diagnosticadas en el Laboratorio Regional de Sanidad Animal y consistieron en

Las que se citan a continuación y el órgano donde fueron aisladas:

Ojos: *Sphmon (Sphingomonas) paucimobilis*

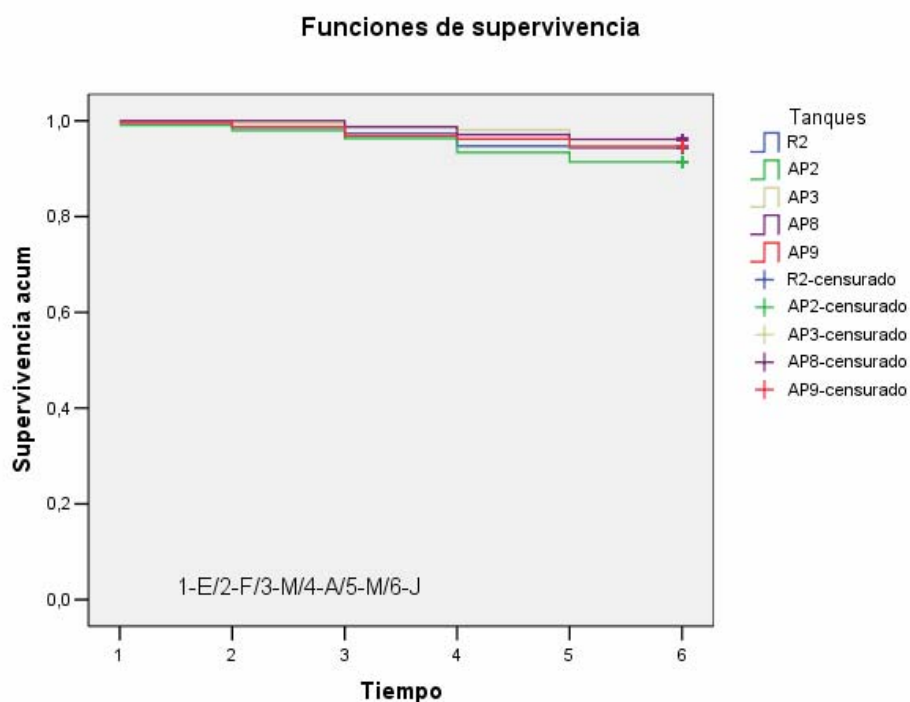
Branquias y digestivo: *Pseudomonas fluorescens*

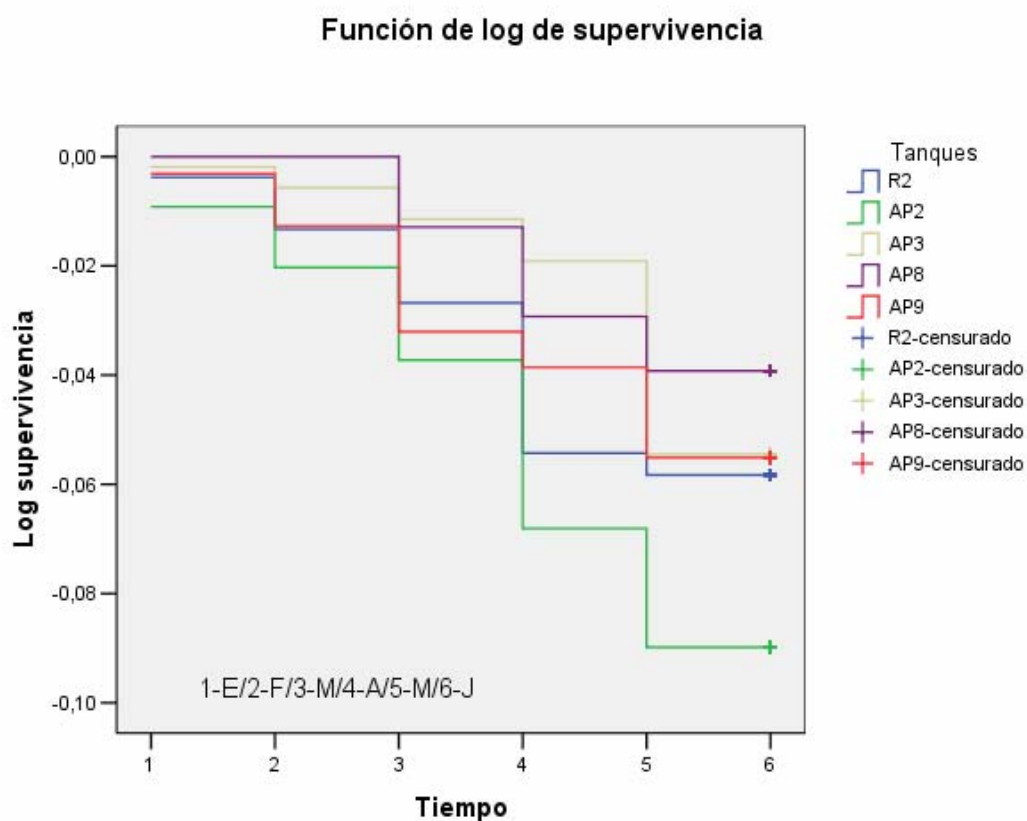
Aletas pectorales: *Lc(Lactobacillus) garviae*.

La infección fue tratada con gentamicina en baños, tratamiento al que respondieron muy bien, con una desaparición total de la mortalidad a partir del tercer día y una mortalidad acumulada inferior al 2%.

9.- Supervivencia

Se presentan los gráficos de la función de supervivencia durante el año de los distintos tanque y divididos en dos periodos, el más cálido y el mas frío. Se presentan también los gráficos función de logaritmo de la supervivencia para “amplificar” visualmente las líneas de supervivencia que al se pequeña y muy igual en el gráfico normal aparecen las líneas juntas. Se dan también los índices del test comparativo entre ellos.





El mes de junio, en ambos casos, está considerado como final del periodo, es decir no se considera con casos de mortalidad, es decir son casos censurados (no se ha producido el evento).

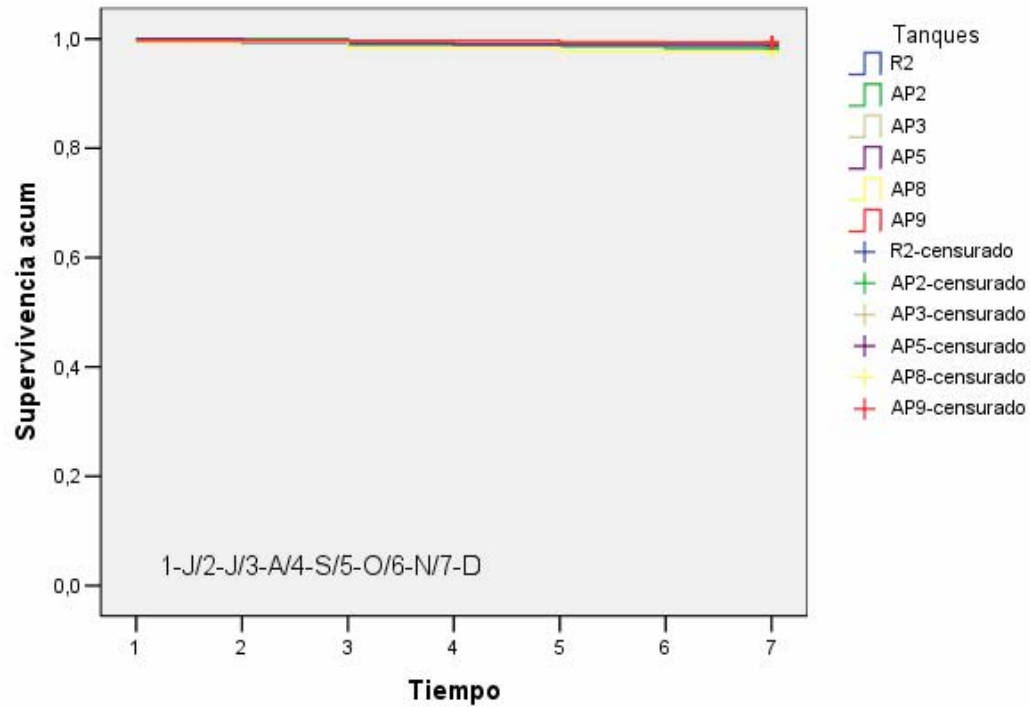
Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	10,103	4	,039
Breslow (Generalized Wilcoxon)	10,238	4	,037
Tarone-Ware	10,170	4	,038

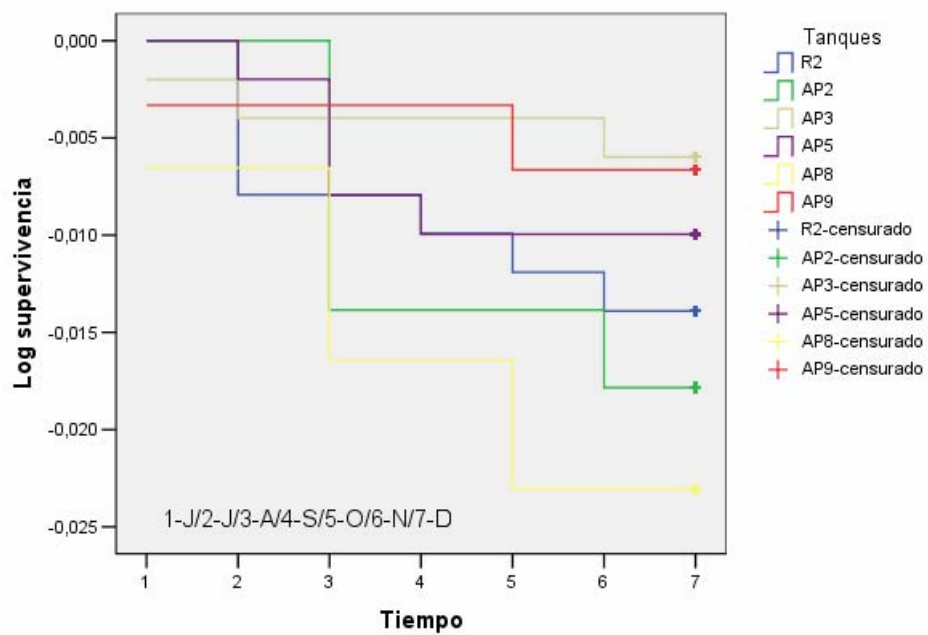
Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de Tratamiento (Tanques).

Se observa que hay diferencias significativas entre los distintos tanques al presentarse la mayor mortalidad en el tanque AP2 por la mayor incidencia de la patología.

Funciones de supervivencia



Función de log de supervivencia



Se ha considerado el mes de noviembre hasta su mitad, al ser un año especialmete cálido y a partir de esa fecha y el mes de diciembre no han sido considerados como mortalida es decir son casos censurados (no se ha producido el evento)

Comparaciones globales			
	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	6,650	5	,248
Breslow (Generalized Wilcoxon)	6,647	5	,248
Tarone-Ware	6,649	5	,248

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de Tratamiento (Tanques).

Se puede observar que no hay diferencias significativas entre los distintos tanques en este periodo que coincide con ser el de la temperatura mas elevada del agua.

RECAPITULACIONES Y CONSIDERACIONES GENERALES

Hacemos a continuación una serie de valoraciones, consideraciones y propuestas de cara a que en un futuro se abordase de nuevo este interesante tema.

Si se capturan individuos para estabulación deberían ser del tamaño mas pequeño posible, tallas de 3-4 cm para un mejor trasporte y adaptación.

El número de individuos del stock debe de ser muy elevado. En este estudio podemos hablar de pocos cientos y unas puestas realmente pequeñas, cuando es necesario hablar de varios miles, dado que las puestas son cíclicas y es la única manera de obtener la suficiente cantidad. Aún así podría ser necesario incubar las primeras de la semana a temperaturas mas frías y gradualmente mas calientes las siguientes para al final de la misma obtener una eclosión simultánea con suficiente número de larvas.

No obstante una vez comprobada la posibilidad de mantenimiento en cautividad y de disponer de una alimentación adecuada, aunque siempre mejorable, sería interesante valorar la posibilidad de efectuar directamente en la zona de puesta una captura directa de huevos de bocarte para su posterior incubación en las instalaciones de cultivo.

Es de gran interés contemplar no sólo la posibilidad sino también y mucho el uso como carnada. El bocarte sigue siendo considerado como el mejor cebo vivo para túnidos, especialmente bonito. Las capturas han de realizarse en las zonas de puesta y cría, en el caso del Cantábrico a la altura de Burdeos. De otra parte se reduciría la presión sobre las capturas del stock salvaje sobre ejemplares inmaduros, en el año en curso unos 250.000 kg mínimo de la flota solamente del Cantábrico. De manera que se reduciría la presión sobre el stock y lo que es muy importante los barcos saldrían con el cebo en sus viveros del puerto sin tener que ir a capturarlo previamente a considerables distancia.

En este aspecto y aunque quizás la especie tenga menos dificultades en su cultivo, tanto en Japón (Kagoshima) como en Brasil se han conseguido cultivar sardinas con este mismo fin. Los datos de Brasil citan que cada embarcación atunera captura dos toneladas de sardinas(parrocha) equivalentes a 1 millón de ejemplares cada vez que parte para la pesca. Los datos de los que disponemos de los barcos del Cantábrico, son de la mitad de esta cantidad, pero referida exclusivamente al bocarte.

Sin embargo hay que hacer una llamada de atención sobre esta cuestión y es a nivel de posible “contaminación” genética, aunque la imaginamos mínima entre otros factores por el escaso número de ejemplares que sobrevivan, no obstante creemos de interés citarla. Según el trabajo citado de Borrel, Y *et al.*, 2011, en esta especie, durante la reproducción no todos los machos asumen la función de fecundar si no que sólo unos pocos son los que la ejercen y a los que podríamos considerar “dominantes”. Estos machos no tienen porque ser los mismos cada año si no que son relevados por otros, pero dentro de cada año de puesta, de cada stock la variabilidad genética será menor que si intervinieran todos los machos, aunque con las cifras mencionadas no creemos afectada la heterocigosidad de la población salvaje, si consideramos de interés ponerlo en conocimiento.

10. Bibliografía citada.

Amalia Martínez de Murguía, Deborah Lée Herrero, Victor García-Arguelles, Arantza Garmendia, Enero Artola, Ziortza Girón, Andrés Uriarte, Paula Alvarez, Pablo Cermeño, Paulino Lucio, Marina Santaurnun, Unai Cotano, Naroa Aldanondo, Yaisel J. Borrell, Jorge Álvarez, Goría Blanco, Jose Antonio Sánchez Prado, Carlos Fernández Pato, Concha Martínez Tapia, 2011: A review of laboratory experiments with European anchova *Engraulis encrasicolus* (L.) at the Aquarium of San Sebastián, 1999-2009. 28th Meeting of the European Union of Aquarium Curators, Stralsund, Germany.

AOAC 2000.- Official Methods of Analysis of the AOAC International. 17th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, USA.

Berner, I., 1959 : The food of the larvae of the northern anchovy *Engraulis mordax*. Bull.inter-Am.trop. Tuna Comm 4, 3-22.

Borrel, Y.; Alvarez, J.; Blanco, G.; Martínez de Murguía, A.; Lee, D.; Fernandez-Pato, C.; Martinez-Tapia, C.; Cotano, U.; Alvarez, P.; Sanchez Prado, J.A. 2011: A parentage study using microsatellite loci in a pilot project for aquaculture of the European anchova *Engraulis encrasicolus* L. Aquaculture 310, 305-311

Christie, W.W., 1982.-Lipid Analysis. Pergamon Press. Oxford.

Folch J., Lee M., Sloane-Stanley GH. 1957.- A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J. BIOL.CHEM. 22:477-509.

Garrido, S., E. Saiz, J. Peters, P. Ré, P. Alvarez, U. Cotano, D.L. Herrero A. Martínez de Murguía, X. Irigoien, 2012: Effect of food type and concentration on growth and fatty acid composition of early larvae of the anchovy (*Engraulis encrasicolus*) reared under laboratory conditions. Journal of experimental Marine Biology and Ecology. 434-435, 16-24.

Lasker, R., H.M. Feder, G.H. Theilacker and R.C. May, 1970: Feeding, growth and survival of *Engraulis mordax* larvae in the laboratory. Marine Biology, 5, 345-353.

Metcalf, L.D. & Schmitz, A. 1961.- The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Anal Chem., 33:363-364.

Theilacker, G.H. 1987. Feeding ecology and growth energetics of larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin, Vol.85, nº2.

11. Bibliografía general.

- Aka, Z., Koc, H.T. & Turan, C.,2004. A study on the growth of the anchovy *Engraulis encrasicolus*, Linnaeus (1758) in Turkish Seas.. Pakistan Journal of Biological Sciences 7 (7): 1121-1126..
- Alcicek, Z.,2011. Determination shelf life an PAHs content of smoked anchovy (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758) nugget with different level liquid smoke flavours during chilled storage.. Journal of Animal and Veterinary Advances 10 (20): 2691-2695.
- Aldanondo, N.,2011. Growth of the young-of-the-year European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) in the Bay of Biscay.. Scientia Marina 75(2)
- Alday, A., Santos, M., Uriarte, A., Martín, I., Martínez, U. & Motos, L.,2010. Revision of the criteria for the classification of postovulatory follicles degeneration, for the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.). Revista de Investigación Marina, 2010, 17(8)
- Alday, A., Uriarte, A., Santos, M., Martín, I., Martínez de Murgia, A. & Motos, L.,2008. Degeneration of postovulatory follicles of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.). Scientia Marina 72(3): 565-575.
- Angelescu, V. & Anganuzzi, A.,1986. Requerimiento trófico individual en relación con el crecimiento, ciclo sexual y las migraciones estacionales.. Rev. Invest. Des. Pesq. Nº 5: 194-223
- ANREC (2006). Association of Physical and Biological Processes Acting on Recruitment and Post-Recruitment Stages of Anchovy. Report No. QLRT-2001-01216.
- Bachiller Otamendi, E.,2008. Feeding behaviour and diet of anchovy juveniles (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Bay of Biscay.. Master thesis project, European Master of Science in Marine Environment and Resources, E.H.U.
- Bas, C. & Morales, E.,1954. Algunos datos para el estudio de la biología de la anchoa *Engraulis encrasicolus* L. de la Costa Brava.. Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada. Tomo XVI.
- Basilone, G. 2004. Linking habitat conditions and growth in the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Fisheries Research 68: 9–19.
- Basilone, G., Patti, B., Bonanno, A., Cuttitta, A., Vergara, A.R., Garcia, A., Mazzola, S. & Buscaino, G.,2004. Reproductive aspects of the European anchovy *Engraulis encrasicolus*: six years of observations in the strait of Sicily.. MedSudMed Technical Documents No. 5.
- Basilone, G. 2006. Effect of habitat conditions on reproduction of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily. Fisheries Oceanography 15: 271–280.
- Bergeron, J.P.,2009. Nutritional condition of anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae in connection with mesozooplankton feeding catabolism in the southern Bay of Biscay, NE Atlantic. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology vol. 377, Issue 2, 1 September 2009, pages 76-83.
- Bergeron, J.P. & Massé, J.,2011. Change in the shoaling behaviour and nutritional condition of anchovies (*Engraulis encrasicolus* L.) during a wind-induced water column disturbance: a natural event test of a general hypothesis.. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, March 2011, Volume 44, Issue 2, Pages 93-107
- Boggs, Christofer H.,1991. Bioenergetics and Growth of Northern Anchovy (*Engraulis mordax* G.). Fishery Bulletin 89(1-4).

- Borja, A., Uriarte, A., Valencia, V., Motos, M. & Uriarte, A., 1996. Relationships between anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) recruitment and the environment in the Bay of Biscay. *Scientia Marina* 60(Suppl.2), 179-192.
- Cacho, O.J., 1990. Protein and fat dynamics in fish: A bioenergetic model applied to aquaculture, *Ecological Modelling*, Volume 50, Issues 1-3, Pages 33-56.
- Cho, C.Y. & Bureau, D.P. 1998. Development of bioenergetic models and the Fish-PrFEQ software to estimate production, feeding ration and waste output in aquaculture, *Aquatic Living Resources*, Volume 11, Issue 4, July-August 1998, Pages 199-210.
- Conway, D.V.P., Coombs, S.H. & Smith, C. 1998. Feeding of anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae in the North Western Adriatic Sea in response to changing hydrobiological conditions. *Marine Ecology Progress Series* 175:35-49.
- Cook, J.T, McNiven, M.A., Richardson, G.F. & Sutterlin, A.M. 2000. Growth rate, body composition and feed digestibility/conversion of growth-enhanced transgenic Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Aquaculture*, Volume 188, Issues 1-2, 1 August 2000, Pages 15-32.
- Cotano, U., Irigoien, X., Etxebeste, E.. 2008. Distribution, growth and survival of anchovy larvae (*Engraulis encrasicolus* L.) in relation to hydrodynamic and trophic environment in the Bay of Biscay. *J. Plankt. Res.* 30:467-481.
- Cuenca, M.L., Stickney, R.R. & Grant, W.E. (1985). Fish bioenergetics and growth in aquaculture ponds: Individual model development. *Ecol. Modell.*, 27: 169-190.
- Cui, Y. & Wootton, R.J. 1988. Bioenergetics of growth of a cyprinid, *Phoxinus phoxinus*: the effect of ration, temperature and body size on food consumption, faecal production and nitrogenous excretion. *Journal of Fish Biology*, 33: 431-443.
- Cui, Y., Chen, S. & Wang, S. 1994. Effect of ration size on the growth and energy budget of the grass carp, *Ctenopharyngodon idella* Val. *Aquaculture*, Volume 123, Issues 1-2, 1(95-107).
- Darowski, K., Takashima, F. & Law, Y.K. 1988. Bioenergetic model of planktivorous fish feeding, growth and metabolism: theoretical optimum swimming speed of fish larvae. *Journal of Fish Biology*, 32: 443-458.
- De Koning, A.J., 2004. Rates of cholesterol ester formation during storage of anchovy (*Engraulis capensis*) at various temperatures.. *International Journal of food properties*. Vol. 7, No. 2, pp. 321-327, 2004.
- De Silva, S. & Anderson, T. 1995. "Fish nutrition in aquaculture". Chapman & Hall aquaculture series 1.
- Drake, P., Borlán, A., González-Ortegón, Baldó, F., Vilas, C. & Fernández-Delgado, C., 2007. Spatio-temporal distribution of early life stages of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* L. within a European temperate estuary with regulated freshwater inflow: effects of environmental variables.. *Journal of Fish Biology* 70, 1689-1709
- Dos Santos, J., Burkow, I.C. & Jobling, M. 1993. Patterns of growth and lipid deposition in cod (*Gadus morhua* L.) fed natural prey and fish-based feeds. *Aquaculture*, Volume 110, Issue 2, 1 March 1993, Pages 173-189.
- Dubreuil, J. and Petitgas, P., 2009. Energy density of anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Bay of Biscay. *Journal of Fish Biology*, vol.74 3, 521:534.

- Dulcic, J.1993. Stock assessment of the adriatic anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) using egg surveys.. Acta Ichthyologica et Piscatoria, Vol. XXIII, fasc.1
- Dumas, A., France, J. & Bureau, D. 2010. Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? Aquaculture Research, 41: 161–181.
- Espinoza, C., Perea, A., Buitrón, B., Cisneros, P., Catcoparco, C., Alberro, A. & Vizziano, D.2010. Inducción del desove y espermiación de anchoveta peruana *Engraulis ringens* (Jennyns, 1842) en cautiverio mediante la inyección de un análogo de GnRH.. Lat. A. J. Aquat. Res., 38(2): 234-241.
- Espinoza, C., Vera, V., Perea, A., Buitrón, B., Rojas, P. & Kjesbu, O.S.,2009. Efecto de la ración alimenticia sobre la maduración gonadal y acumulación de grasa de anchoveta peruana (*Engraulis ringens* Jenyns, 1842) en cautiverio.. Lat. Am. J. Aquat. Res., 37(2): 181-190.
- Espinoza, P.A.2010. Dinámica espaciotemporal en la ecología trófica de la anchoveta (*Engraulis ringens* Jenyns, 1842) en el Mar Peruano.. Tesis grado magister, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú .
- Fraga, F.,1955. Variación estacional de la composición química de la anchoa (*Engraulis encrasicolus*).. Inv. Pesq. Tomo II: 21-31.
- Hakanson, J.L.1989. Analysis of lipid components for determining the condition of anchovy larvae, *Engraulis mordax*.. Marine Biology 102, 143-151.
- Garrido, S., Marçalo, A., Zwolinski, J. & Van der Lingen, C. 2007. Laboratory investigations on the effect of prey size and concentration on the feeding behaviour of *Sardina pilchardus*. Marine Ecology Progress Series 330: 189-199
- Glencross, B., Booth, M. & Allan, G. 2007 A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquaculture Nutrition, 13: 17–34.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W. & Watanabe, Y. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. Env. Biol. Fish. 16: 59-77.
- Gutowska, M.A., Drazen, J.C. & Robison, B.H. 2004. Digestive chitinolytic activity in marine fishes of Monterey Bay, California, Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology, Volume 139, Issue 3, 351-358.
- Hannachi, O., Bouakka, M., Melhaoui, M. & Hakkou, A..2011. Seasonal evolution of the biochemical composition of the Moroccan Mediterranean Coast anchovy (*Engraulis encrasicolus*).. Advances in Environmental Biology, 5(7): 1787-1793
- Holt, G.J. 2011. Larval fish nutrition. Ed. John Wiley & Sons.London.
- Hülya Orak, H. & Kayisoglu, S.,2008. Quality changes in whole, gutted and filleted three fish species (*Gadus euxinus*, *Mugil cephalus*, *Engraulis encrasicolus*) at frozen storage period (-26°C).. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 7 (3) 15-28.
- Hunt von Herbing, I. & Turnbough, M. 2011. Bioenergetics of Growth in Commercially Important Developing Fishes, in Larval Fish Nutrition (Ed. G. J. Holt), Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Hunter, J. & Nicholl, R.,1985. Visual threshold for schooling in northern anchovy *Engraulis mordax*.. Fishery Bulletin Vol. 83, No.3.
- Hunter, J. R. & Dorr, H.,1982. Thresholds for Filter Feeding Northern Anchovy, *Engraulis mordax*. CalCOFI Report No. 23:198-204.

- Hunter, J.R.,1976. Culture and growth of Northern Anchovy, *Engraulis mordax*, larvae.. Fishery Bulletin: Vol. 74, No. 1
- Hunter, J.R.,1977. Behavior and survival of Northern Anchovy, *Engraulis mordax* larvae.. CalCOFI, Invest. Rep.
- Hunter, J.R.,0. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. SWFSC..NOAA.GOV.
- Hunter, J.R. & Coyne, K.,1982. The onset of schooling in Northern Anchovy larvae, *Engraulis mordax*.. CalCOFI re., Vol. XXIII,
- Hunter, J.R. & Leong, R.,1981. The spawning energetics of female northern anchovy, *Engraulis mordax*.. Fishery Bulletin vol. 79, No.2.
- Hunter, J.R., Kaupp, S.E. & Taylor, J.H.,1981. Effects of solar and artificial ultraviolet-B radiation on larval northern anchovy, *Engraulis mordax*.. Photochemistry and Photobiology Vol. 34, pp. 477 to 486
- Islam, S. & Tanaka, M.,2009. Diet and prey selection in larval and juvenile Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in Ariake Bay, Japan.. Aquat. Ecol. 43: 549-558.
- James, A.G. & Findlay, K.P. 1989. Effect of particle size and concentration on feeding behaviour, selectivity and rates of food ingestion by the cape anchovy *Engraulis capensis*. Marine Ecology Progress Series 50: 275–294.
- James, A.G. & Probyn, T. 1989. The relationship between respiration rate, swimming speed and feeding behaviour in the Cape anchovy *Engraulis capensis* Gilchrist. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 131: 81–100.
- James, A.G., Probyn, T. & Seiderer, L.J. 1989 Nitrogen excretion and absorption efficiencies of the Cape anchovy *Engraulis capensis* Gilchrist fed upon a variety of plankton diets. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 131: 101–124.
- Jobling, M. 1994. Fish bioenergetics. Fish and fisheries series 13. Series ed. T.J. Pitcher.Chapman and Hall, London.
- Köse, S. & Erdem, M.E.,2004. An investigation of quality changes in anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758) stored at different temperatures.. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 28: 575-582.
- Lim, C., Lee, C.S. & Webster, C.D. 2008. Alternative Protein Sources in Aquaculture Diets. Haworth Press .
- Lisovenko, L.A. & Andrianov, D.P. 1996. Reproductive biology of anchovy (*Engraulis encrasicolus ponticus* Alexandrov 1927) in Black Sea. Scientia Marina 60: 209–218.
- Lovell, T. 1998. Nutrition and feeding of fish. Kluwer Academic Publishers.
- Magoulas, A., Tsimenides, N. & Zouros, E. 1996. Mitochondrial DNA phylogeny and the reconstruction of the population history of a species: the case of the European Anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Molecular Biology and Evolution 13: 178–190.
- Moser, H.G. & Ahlstrom, E.H.,1985. Staging anchovy eggs. In: R. Lasker (Editor), An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax*, NOAA Tech. Rep. NMFS 36. U.S. Dep. Commer., Wash., D.C., 99p.
- Motos, L.,1996. Reproductive biology and fecundity of the Bay of Biscay Anchovy population (*Engraulis encrasicolus* L.). Scientia Marina 60(Suppl.2), 195-207.

- Motos, L., Uriarte, A. & Valencia, V.,1996. The spawning environment of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.). *Scientia Marina* 60(Suppl.2), 117-140.
- Mullon, C., Fréon, P., Parada, C., Van Der Lingen, C. & Huggett, J.,2003. From particles to individuals: modelling the early stages of anchovy (*Engraulis capensis/encrasicolus*) in the southern Benguela.. Blackwell Publishing Ltd, *Fish. Oceanogr.*, 12:4/5, 296-406.
- Munch, S.B. & Conover, D.O.2002. Accounting for local physiological adaptation in bioenergetic models: testing hypotheses for growth rate evolution by virtual transplant experiments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 59: 393–40.3
- Nelson, K., Hutchinson, E.S., Li, G., Sly, F.S. & Hedgecock, D.,1994. Variation in life history and morphology in northern anchovies (*Engraulis mordax*).. *CalCOFI rep.*, Vol. 35.
- O'Connell, C.P.,1981. Development of orhan systems in the Northern Anchovy *Engraulix mordax*, and other Teleost. *American Zoology* 21:429-446.
- O'Connell, C.P.1972. The interrelation of biting and filtering in the feeding activity of the Northern Anchovy (*Engraulis mordax*). *Journal Fisheries Research Board of Canada*, vol. 29, No. 3.
- Öksüz, A. & Özyilmaz, A.2010. Changes in fatty acid compositions of Black Sea anchovy (*Engraulis encarsicolus* L. 1758) during catching season.*Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 10: 381-385.
- Palomera, I & Sabatés, A.,1990. Co-occurrence of *Engraulis encrasicolus* and *Sardinella aurita* eggs and larvae in the northwestern Mediterranean.. *Scientia Marina* 54(1): 61-67
- Peck, M.A. & Daewel, U.2007. Physiologically based limits to food consumption, and individual-based modeling of foraging and growth of larval fishes *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 347: 171-183
- Pecquerie, L., Petitgas, P. & Kooijman, S. 2009. Modelling fish growth and reproduction in the context of the dynamic energy budget theory to predict environmental impact on anchovy spawning duration. *Journal of Sea Research* 62: 93–105.
- Pei, Z., Xie, S., Lei, W., Zhu, X. & Yang, Y.2004. Comparative study on the effect of dietary lipid level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carassius auratus* Gibelio) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). *Aquaculture Nutrition*, 10: 209–216.
- Person-Le Ruyet, J., Buchet, V., Vincent, B., Le Delliou, H. & Quemener, L. 2006. Effects of temperature on the growth of pollack (*Pollachius pollachius*) juveniles, *Aquaculture*, Volume 251, Issues 2-4, 28:340-345.
- Pertierra, J.P.1987. Crecimiento del boquerón (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758) (Pisces, Engraulidae) de la costa catalana (Mediterraneo noroccidental).. *Inv. Pesq.* 51(2): 263-275,
- Pertierra, J.P. & Lleonart, J.1996. NW Mediterranean anchovy fisheries. *SCI. MAR.*, 60 (Supl. 2): 257-267
- Pertierra, J.P., Lleonart, J & Lo, N.C.H.1997. Application of a stage-specific matrix model and length-cohort based analysis to assess the anchovy fishery in Catalan coastal waters (NW Mediterranean Sea). *Fisheries Research* 30: 127–137.
- Petersen, J.H., Deangelis, D.L. & Paukert, C.P.2008. An Overview of Methods for Developing Bioenergetic and Life History Models for Rare and Endangered Species. *Transactions of the American Fisheries Society* 137: 244-253.

- Petitgas, G.A.P., Lazure, P. & Grellier, P.2007. Biophysical modelling of larval drift, growth and survival for the prediction of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) recruitment in the Bay of Biscay (NE Atlantic). Fisheries Oceanography vol.16 Issue 6:489-505.
- Plounevez, S. and Champalbert, G.1999. Feeding Behaviour and Trophic Environment of *Engraulis encrasicolus* (L.) in the Bay of Biscay. Estuarine, Coastal and Shelf Science 49: 177– 191.
- Plounevez, S. and Champalbert, G.2000. Diet, feeding behaviour and trophic activity of the anchovy (*Engraulis encrasicolus* L) in the Gulf of Lions (Mediterranean Sea). Oceanologica Acta 23:175–192.
- Politikos, D.V., Triantafyllou, G., Petihakis, G., Tsiaras, K., Somarakis, S., Ito, S. & Megrey, B.A.2011. Application of a bioenergetics growth model for European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) linked with a lower trophic level ecosystem model. Hidrobiología 670:141-163.
- Pons, S.2005. Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y sus derivados.. Tesis doctoral, Facultad de Farmacia, Departamento de Nutrición y Bromatología, Universidad de Barcelona.
- Raab, K., Nagelkerke, L.A.J., Boerée, C., Rijnsdorp, A.D., Temming, A. & Dickey-Collas, M.,2011. Anchovy *Engraulis encrasicolus* diet in the North and Baltic Seas.. Journal of Sea Research 65:131-140
- Rampa, R., Arneri, E., Belardinelli, A., Caputo, E., Cingolani, N., Colella, S., Donato, F., Giannetti, G. and Santojanni, A.2005. Length at first maturity of the Adriatic anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.). Scientific Cooperation to Support Responsible Fisheries in the Adriatic Sea
- Ratti, M. M.1986. Estudio comparativo de caracteres merísticos y morfométricos de la anchoita (*Engraulis anchoita*). Rev. Invest. Des. Pesq. N° 5: 169-182.
- Ré, P.1985. Ecologia da postura e da fase planctónica de *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) e de *Engraulis encrasicolus* (Linné, 1758).
- Ré, P.1996. Anchovy spawning in the Mira estuary (southwestern Portugal). Scientia Marina 60(Supl. 2): 141-153
- Regner, S.1996. Effects of environmental changes on early stages and reproduction of anchovy in the Adriatic Sea.. Scientia Marina 60(Supl. 2): 167-177.
- Rossi, S., Sabate's, A., Latasa, M. & Reyes, E. 2006. Lipid biomarkers and trophic linkages between phytoplankton, zooplankton and anchovy (*Engraulis encrasicolus*) larvae in the NW Mediterranean. Journal of Plankton Research 28: 551–562.
- Ruiz, J., Prieto, L., Navarro, G., Rodriguez-Galvez, S. & González-Quirós, R.2007. Environmental forcing on anchovy (*Engraulis encrasicolus*) catches in the Southern Iberian peninsula.. Rapp. Comm. int. Mer Médit., 38.
- Sanfilippo, M., Reale, A., Ziino, M., Romeo, V., Lembo, E. & Manganaro, A. 2011. Chemical composition and nutritional value of *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) caught by driftnet ""Menaide"" along Sicilian Coast: a natural food for mediterranean diet. World Journal Of Fish and Marine Sciences 3 (1): 44-50.
- Santinha, P.J.M., Medale, F., Corraze, G. & Gomes, E.F.S. 1999. Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture Nutrition, 5: 147–156.

- Santos, M., Uriarte, A. & Ibaibarriaga, L. 2011. Spawning Stock Biomass estimates of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) in 2010 applying the Daily Egg Production Method. *Revista de Investigación Marina*, 18(5).
- Sanz, A. and Uriarte, A. 1989. Reproductive cycle and batch fecundity of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in 1987.. *CalCOFI Rep.* Vol. 30.
- Sanz Rus, A., Enjuto, C., Morales, A.E., Hidalgo, M.C., and Garcia-Gallego, M. 2000. Description of a facility for studying energy metabolism in fish: application to aquaculture. *Aquacultural Engineering*, Volume 21, Issue 3:169-180.
- Silva, P., Andrade, C.A.P., Timóteo, V.M.F.A., Rocha, E. and Valente, L.M.P. 2006. Dietary protein, growth, nutrient utilization and body composition of juvenile blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich). *Aquaculture Research*, 37: 1007–1014.
- Sinovcic, G. 1998. The population dynamics of the juvenile anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L.), under the Estuarine conditions (Novigrad Sea - Central Eastern Adriatic). *CIHEAM-IAMZ*, Zaragoza.
- Somarakis, S., Kostikas, I., Peristeraki, N. and Tsimenides, N. 1997. Fluctuating asymmetry in the otoliths of larval anchovy *Engraulis encrasicolus* and the use of developmental instability as an indicator of condition in a larval fish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 151: 191-203.
- Somarakis, S., Palomera, I., Garcia, A., Quintanilla, L., Koutsikopoulos, C., Uriarte, A. and Motos, L. 2004. Daily egg production of anchovy in European waters. *ICES Journal of Marine Science*, 61: 944-958.
- Somarakis, S. 2005. Marked interannual differences in reproductive parameters and daily egg production of anchovy in the northern Aegean Sea. *Belgian Journal of Zoology* 135: 247–252.
- Somarakis, S. and Nikolioudakis, N. 2007. Oceanographic habitat, growth and mortality of larval anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the northern Aegean Sea (eastern Mediterranean). *Marine Biology* 152: 1143–1158.
- Tecchio, S. 2008. Relating nutritional condition and food of anchovy larvae (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) in the Gulf of Lions (North-Western Mediterranean).. *Laurea specialistica in Biologia Marina, Facoltà di scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Università degli studi di Padova*.
- Theilacker, G. and Kimball, A. 1984. Comparative quality of rotifers and copepods as foods for larval fishes. *CalCOFI Rep.* Vol. XXV.
- Thompson, K.R., Rawles, S.D., Metts, L.S., Smith, R., Wimsatt, A., Gannam, A.L., Twibell, R.G., Johnson, R.B., Brady, Y.J. and Webster, C.D. 2008. Digestibility of dry matter, protein, lipid, and organic matter of two fish meals, two poultry by product meals, soybean meal, and distiller's dried grains with solubles in practical diets for sunshine bass, *Morone chrysops* × *M. saxatilis*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39: 352–363.
- Tirelli, V., Borme, D., Tulli, F., Cigar, M., Umani, S.F. and Brandt, S.B. 2006. Energy density of anchovy *Engraulis encrasicolus* L in the Adriatic Sea. *Journal of Fish Biology* 68: 982–989.
- Trushenski, J.T., Kasper, C.S. and Kohler, C.C. 2006. Challenges and opportunities in finfish nutrition. *North American Journal of Aquaculture* 68: 122-140.
- Tudela, S. & Palomera, I. 1995. Diet feeding intensity and daily ration in the anchovy *Engraulis encrasicolus* in the northwest Mediterranean Sea during the spawning period.. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 129: 55-61.

- Tudela, S. & Palomera, I. 1997. Trophic ecology of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Catalan Sea (northwest Mediterranean). Marine Ecology Progress Series 160: 121–134
- Tudela, S. & Palomera, I. 1999. Potential effect of an anchovy mediated pump on the vertical availability of nitrogen for primary production in the Catalan Sea (northwest Mediterranean). Journal of Sea Research 42: 83–92.
- Tudela, S., Palomera, I. and Quilez, G. 2002. Feeding of anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae in the northwest Mediterranean. Journal of Marine Biological Association of the UK 82: 349–350.
- Tytler, P. & Calow, P. 1985. Fish energetics: new perspectives. Baltimore, Md.: Johns Hopkins University Press.
- Valde's, E.S. 1993. The energetics and evolution of intraspecific predation (egg cannibalism) in the anchovy *Engraulis capensis*. Marine Biology 115: 301–308.
- Van der Lingen, C. D. and Durholtz, M. D. 2001. Review of variability in biomass, growth and other characteristics of anchovy *Engraulis encrasicolus* and sardine *Sardinops sagax* in the Benguela. Current Upwelling Ecosystem. Picesint .
- Ware, D.M. 1978. Bioenergetics of Pelagic Fish: Theoretical Change in Swimming Speed and Ration with Body Size. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 35:(2): 220-228.
- Webster, C.D. & Lim, C.E. 2002. Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
- Weish, D. 1980. Energetic significance of changes in swimming modes during growth of larval anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin: Vol. 77, No. 3.
- Xu, Y. 2003. Modeling the seasonal and interannual variability of peruvian anchovy (*Engraulis ringens*) populations dynamics: linking environmental conditions with fish. Phd. B.S. Ocean University of China.
- Zarraonaindia, I., Pardo, M.A., Iriondo, M., Manzano, C. and Estonba, A. 2009. Microsatellite variability in European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) calls for further investigation of its genetic structure and biogeography. ICES J. Mar. Sci. 66 (10): 2176-2182.